

**“Microcontaminantes ambientais, um estudo aplicado
da sua importância médico legal”**

Dissertação de Candidatura ao grau de
Mestre em Medicina Legal, submetida ao
Instituto de Ciências Biomédicas de Abel
Salazar da Universidade do Porto.

Orientadora - Doutora Maria José Carneiro de
Sousa Pinto da Costa Categoria - Professora
associada convidada.

Afiliação - Instituto de Ciências Biomédicas
Abel Salazar da Universidade do Porto.

RESUMO

A revolução industrial foi um dos marcos históricos que mais marcaram o Mundo e mudaram por completo o funcionamento de cada país, enriquecendo-os e permitindo um nível de vida melhor. Mas nem tudo foram consequências positivas pois a partir desta altura, devido ao consumismo, verificou-se um aumento da degradação ambiental por má utilização dos recursos disponíveis e pelo aumento da poluição provocada pelos processos naturais e pelas indústrias. As substâncias libertadas por estas, quando em contato com o ser humano, provocam reações toxicológicas que podem ser graves. Existem mesmo organismos biológicos que sofrem mutações, se o tóxico alcançar os órgãos – alvo, em concentração e tempo suficientes. Mais uma vez, reflete-se aqui a importância que estes poluentes começam a ter no dia a dia dado que lhes estão associadas patologias graves e maioritariamente irreversíveis. Neste sentido, este tema torna-se relevante do ponto de vista da Medicina Legal não só porque surge como causa de morte, sendo necessário o estudo exaustivo destes metais e a forma como atuam no organismo, mas também porque estão associados a doenças profissionais cujo parecer é efetuado pela Medicina Legal.

Como auxílio a essa avaliação, foi elaborada a Tabela Nacional de Incapacidades (TNI) com o intuito de impor normas na avaliação de incapacidades por acidentes ou doenças de trabalho, determinando compensações justas para cada caso analisado. No que respeita aos metais pesados, esta tabela contempla a proteção dos trabalhadores contra os riscos a que estão sujeitos devido à exposição ao chumbo, arsénio e mercúrio nos locais de trabalho, estando definidos os limites máximos permitidos para cada um destes metais.

A Saúde Pública intervém tendo sempre em conta que a saúde é um recurso indispensável para o indivíduo e para a sociedade, devendo ser mantida através de um forte investimento nas condições de vida que criam, mantêm e protegem a saúde.

Em contato permanente com os metais pesados, o organismo desenvolve a inflamação que é o mecanismo central, presente em todos os organismos vivos, responsável pela reparação dos tecidos após ocorrência de um dano. Numa primeira fase a inflamação crónica e mais tardiamente o mecanismo da inflamação crónica, levando ao aparecimento de cancro.

O melanoma é um tumor maligno que tem origem nos melanócitos, sendo o mais grave cancro da pele (Francis et al, 2006). Este cancro tem vindo a aumentar mais rapidamente do que quaisquer outros tipos de cancro. Além do mais, a proteção solar não reduz o aumento de mortalidade e incidência de melanoma (Demierre and Nathanson, 2003). Vários investigadores têm utilizado diversos agentes químicos para

usos preventivos de modo a atrasar, reverter, suprimir ou prevenir lesões moleculares ou histológicas impedindo a progressão do cancro invasivo. A pele demonstrou obter correlações positivas e significativas com o mercúrio (Hg), crómio (Cr), selénio (Se) e chumbo (Pb) (Burgei J et al, 2005).

Os metais pesados não deveriam existir no organismo, mesmo em pequenas quantidades, devido à sua capacidade para promover uma grande variedade de efeitos prejudiciais, como o cancro. Um dos metais pesados mais amplamente utilizado é o chumbo. A toxicidade deste resulta principalmente da sua interação com os grupos funcionais das enzimas e os locais de afinidade entre as proteínas e os metais (Goering PL, 2003).

A sua atividade é tão nociva que existiu a necessidade de criar uma TNI onde estão inscritos, após estudos efetuados, os valores máximos diários de exposição e as consequências de uma exposição permanente, nomeadamente a nível profissional. Esta é a principal via de contato com o chumbo pelo que a incapacidade temporária ou parcial devido à exposição ocupacional, é avaliada e quantificada de acordo com os efeitos provocados (Magalhães C, 2010).

Estando o mundo atual sempre em constante evolução, a Medicina Legal, como qualquer outra ciência, atualiza-se a cada dia, incidindo sobre todos os temas relevantes, como é o caso deste, dado que a ameaça destes metais é real e preocupante.

Para este trabalho, foram estudadas culturas celulares de melanomas através da inoculação destes em soluções de chumbo, visualizados posteriormente por microscopia de fluorescência.

ABSTRACT

The industrial revolution was one of the landmarks that marked the world and completely changed the functioning of each country, enriching them and allowing a better standard of living. It was not all positive consequences because at that stage due to consumerism, there was an increase in environmental degradation by poor use of available resources and increasing pollution caused by natural processes and industries. The substances released by them, when in contact with humans cause toxicological effects that may be serious. There are even biological organisms that mutate, the toxic reach the target - organ, in sufficient concentration and time. Again, this reflects the importance that these pollutants begin to take on day to day because they are associated with serious and largely irreversible pathologies. Thus, this issue becomes relevant from the point of view of Forensic Medicine not only because it arises as a cause of death, the exhaustive study of these metals and how they act in the body, but also because they are associated with occupational diseases and whose opinion is required made by the medical examiner.

As an aid to this review, was drawn to the National Disability Table (TNI) in order to impose standards on disability evaluation for accidents or occupational diseases, determining fair compensation for each case analyzed. With regard to heavy metals, this table includes the protection of workers from the risks they are subject to exposure to lead, arsenic and mercury in the workplace, being defined the maximum allowable limits for each of these metals.

The Public Health intervenes given that health is a prerequisite for the individual and for society resource and should be maintained through a strong investment in living conditions that create, maintain and protect health. In permanent contact with heavy metals, the body develops inflammation that is the central mechanism, present in all living organisms, responsible for tissue repair after occurrence of damage. In a first stage chronic inflammation and later the mechanism of chronic inflammation, leading to the onset of cancer.

Melanoma is a malignant tumor that is originates in melanocytes and is the most serious skin cancers (Francis et al, 2006). This cancer has increased more rapidly than that of any other cancers. Furthermore, sun protection can't reduce the increase of mortality and incidence of melanoma (Demierre and Nathanson, 2003). Several investigators have used various chemopreventing agents to delay, reverse, suppress or prevent premalignant molecular or histologic lesions from progressing of invasive cancer. Skin showed significant positive correlations with all three organs for mercury (Hg), chromium (Cr), selenium (Se) and lead (Pb) (Burgei J et al, 2005).

The heavy metals should not exist in the organism, even in tiny quantities due to their ability to promote a wide variety of deleterious effects, including cancer. One of the most widely used heavy metal is lead. The toxicity of Pb mainly results from its interaction with the functional groups of the enzymes and the affinity sites between proteins and metals (PL Goering, 1993).

Its activity is so harmful that there was a need to create a TNI which are registered after studies conducted, the maximum daily exposure and the consequences of a permanent exhibition, especially at the professional level. This is the main route of contact with lead by the partial or temporary disability due to occupational exposure is assessed and quantified according to the effects caused (Magalhães C, 2010).

Being the current world constantly evolving, Legal Medicine, like any other science, is updated every day , focusing on all relevant issues, such as this, since the threat of these metals is real and worrisome.

For this study, melanoma cell cultures were evaluated by inoculation of lead in these solutions, subsequently visualized by fluorescence microscopy.

DEDICATÓRIA

*À minha mãe por nunca ter desistido de uma batalha...
...por nunca pensar duas vezes quando o futuro dos filhos estava em causa...
...sem ti este dia jamais teria sido alcançado...
...mais uma batalha vencida...
...Força...
Amo-te Mãe...*

AGRADECIMENTOS

Esta página será apenas dedicada a quem realmente tornou tudo isto possível, contribuindo de forma direta para que este projeto conseguisse ver a luz do dia. Mãe e pai, obrigada pelo esforço que fizeram, as noites perdidas serão lembradas mais como momentos de carinho e afeto do que como momentos de cansaço e desespero.

Ao meu irmão, que pela forma serena como está na vida, se tornou um exemplo grandioso para mim. Não podia estar mais orgulhosa por aquilo que és, maninho, por seres como és. O meu respeito e admiração por ti cresce de dia para dia tal como o meu amor por ti. Serás sempre aquele maninho que um dia me roubou a esparguete da mão. Adoro-te incondicionalmente. Obrigada por tudo aquilo que és, por todas as brincadeiras, por todo o carinho que me dás.

À excelentíssima professora Mónica que considero do fundo do meu coração, uma amiga, que nunca me abandonou, que sempre me puxou para cima, muitas vezes pela orelha, e que, pelo exemplo único, fantástico e maravilhoso de ser humano que é, me faz sentir uma privilegiada por tê-la apenas conhecido. A ela devo tudo o que alcanço hoje. Um obrigado sincero e do tamanho do mundo pela sua presença na minha vida, pelas palavras, boas ou más, ditas na hora certa. Está no meu coração.

À senhora professora Maria José, pelo carinho, apoio e compreensão que teve comigo, por nunca me ter virado as costas, por toda a dedicação e gosto que tem em ensinar quem ainda dá os primeiros passos no mundo da Medicina Legal.

À Tânia, amiga de todos os momentos, irmã de coração. Sempre acreditaste em mim e essa tua força, ajudou-me a conseguir alcançar este fim. Foi assim que começamos, iniciamos este projecto juntas e assim o terminámos, tendo imenso orgulho em tudo aquilo que és, como crescestes e te tornaste fantástica. A nós, maninha, que a vida nos permita usufruir durante muito tempo uma da outra. Fazes-me imensa falta.

A ti, Alex, pelo teu carinho, apoio incondicional, por teres sacrificado noites por mim, por teres tomado conta de mim e compreendido as minhas limitações. Esta vitória é tanto minha como tua. Não esperava outra coisa de ti, és simplesmente o homem da minha vida.

À técnica Catarina pela grandiosa ajuda técnica na execução desta tarefa e ao patologista Harry Smith pelo auxílio na interpretação dos resultados obtidos.

Índice Geral

RESUMO	2-3
ABSTRACT	4-5
DEDICATÓRIA	6
AGRADECIMENTOS	7
INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	11
1) INTRODUÇÃO	12
1.1) GÊNESE DA MEDICINA LEGAL	12
1.1.1) PERÍODO ANTIGO	12
1.1.2) PERÍODO ROMANO	12-13
1.1.3) PERÍODO MÉDIO	13
1.1.4) PERÍODO CANÔNICO	13
1.1.5) PERÍODO CIENTÍFICO	13-14
1.2) ORGANIZAÇÃO MÉDICO LEGAL E ÁREAS DE ATUAÇÃO	14
1.3) GÊNESE DA TOXICOLOGIA	15
1.3.1) TOXICOLOGIA FORENSE	16-17
1.4) TABELA NACIONAL DE INCAPACIDADES	18-20
2) METAIS PESADOS NA SAÚDE PÚBLICA	21
2.1) INTRODUÇÃO	21
2.2) ASPETOS AMBIENTAIS	21-22
2.2.1) POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA	22
2.3) CARACTERÍSTICAS DOS METAIS PESADOS	23
2.4) FONTES DE CONTAMINAÇÃO	23-24

2.5) TOXICOCINÉTICA	24
2.5.1) ABSORÇÃO	24
2.5.2) DISTRIBUIÇÃO E ACUMULAÇÃO	25
2.5.3) BIOTRANSFORMAÇÃO	25
2.5.4) ELIMINAÇÃO	26-27
2.6) TOXICODINÂMICA	27
2.7) TRATAMENTO	27-28
2.8) MECANISMOS DE AÇÃO AGENTES QUÍMICOS	29-30
2.8.1) CHUMBO	30-33
2.8.2) MERCÚRIO	34
2.8.3) ARSÊNIO	34-35
2.9) VIAS DE ABSORÇÃO DOS METAIS PESADOS	35-36
3) INFLAMAÇÃO E CANCRO	37
3.1) VISÃO GERAL DA INFLAMAÇÃO	37-43
MATERIAIS E MÉTODOS	44-45
RESULTADOS	46-51
CONCLUSÃO	52-53
DISCUSSÃO	54-57
BIBLIOGRAFIA	58-59

Introdução

Objetivos

A exposição aos metais pesados é uma contaminação silenciosa, à qual estamos expostos, sem o notarmos, nas atividades diárias do dia a dia, seja pela ocupação laboral, pela ingestão água contaminada ou pela inalação de vapores tóxicos.

A maioria dos achados acima relatados é obtida a partir de estudos pré-clínicos. O fato destas vias terem qualquer papel na prevenção, progressão, diagnóstico, prognóstico ou tratamento de recorrência do cancro em pacientes, e uma temática em constante revisão.

Os metais pesados são metais quimicamente reativos e bio-acumulativos, ou seja, o organismo não é capaz de os eliminar diferindo de outros potenciais agentes tóxicos. Os mais comumente relacionados com carcinoma são: o mercúrio (Hg), o chumbo (Pb), o arsénio (As), o cádmio (Cd), o cobre (Cu), e o zinco (Zn).

Neste trabalho pretendeu-se estudar numa linha celular de melanoma, B16F10, possíveis alterações celulares, por microscopia de fluorescência, decorrentes da ação de um microambiente de inflamação crónica, neste caso foram utilizadas diferentes concentrações de chumbo (cloreto de chumbo).

1) Introdução

1.1) Gênese da Medicina Legal

A medicina legal tem sido alvo de várias definições ao longo do tempo, dada a sua grande abrangência. Deste modo, diferentes autores descrevem-na de formas distintas, como por exemplo:

Lacassagne – “A arte de pôr os conceitos médicos a serviço da administração da Justiça.”;

Pinto da Costa – “Medicina Legal é todo um conjunto de conhecimentos médico-psico-biológicos aplicados ao direito nas mais diversas expressões deste, direito civil, direito penal, direito de trabalho, direito administrativo e muitos outros”;

Hélio Gomes – “O conjunto de conhecimentos médicos e paramédicos destinados a servir ao Direito, cooperando na elaboração, auxiliando na interpretação e colaborando na execução dos dispositivos legais, no seu campo de ação de medicina aplicada”.

Assim, facilmente se compreende que a medicina legal pretende colaborar, numa perspetiva médica, na interpretação, elaboração e principalmente aplicação das leis. A evolução deste conceito ocorre pela necessidade crescente da obtenção de provas para o julgamento dos acusados, tendo ocorrido em cinco períodos: Antigo, Romano, Médio, Canónico e Científico.

1.1.1) Período Antigo

O conhecimento médico-legal já é utilizado, ainda que primitivamente, desde os tempos antigos, e para estabelecer a possível causa de determinados eventos traumáticos. Contudo, durante o período antigo cria-se que a causa das doenças era extraterrena e a medicina era vista mais como uma arte e não como uma ciência (Nogueira T, 2013). Em aproximadamente 1240 a.C., foi criado na China um tratado que ensinava acerca do exame *post-mortem* e que continha uma listagem de venenos e respectivos antídotos (Magalhães C, 2010). No entanto, dado o conceito de “corpo sagrado”, as necropsias não eram permitidas neste período. Os traços básicos da medicina legal verificavam-se apenas em casos relativos à virgindade, violação, homicídios, lesões corporais e problemas de ordem moral (Nogueira T, 2013).

1.1.2) Período Romano

Entre cerca de 753 A.C. – 673 A.C. em Roma, Numa Pompílio ordenou a realização de um exame às grávidas que morriam e Antístio examinou o cadáver de Júlio César verificando a existência de vinte e três golpes de adaga, sendo apenas um deles o

golpe fatal. Aqui se verifica que já era efetuado o exame do corpo mas apenas externamente, uma vez que as necropsias ainda não eram permitidas (Nogueira T, 2013). A Medicina e o Direito emanciparam-se aquando da reforma em Roma, tal como se constata pelo “Código Justiniano”, que se baseava num sistema legislativo primordial, contendo implícita a medicina legal e por isso incluindo a possível intervenção do médico em pequenas perícias.

1.1.3) Período Médio

Ao longo do período médio, o médico começou a interferir de forma mais ativa nas questões do direito. Foi nesta altura que Carlos Magno emitiu alguns decretos em que afirmava a importância dos pareceres médicos nos julgamentos (Nogueira T, 2013). Também nesta época se instalaram as inquisições germânicas, nas quais a pena aplicada dependeria apenas do dano causado (Magalhães C, 2010).

1.1.4) Período Canónico

Abrange os anos de 1200 a 1600, aproximadamente. Em 1209, foi instaurada a legislação canónica por Inocêncio III, tendo sido assim que se principiaram as perícias médicas. Facto marcante deste período foi a autópsia realizada ao Papa Leão X, com propósito da determinação da causa da sua morte no ano de 1521, e a criação do Código Criminal Carolino, onze anos depois (Nogueira T, 2013). A importância deste Código prende-se principalmente com a obrigatoriedade da perícia médica em casos específicos, como o enforcamento ou o infanticídio, entre outros. Em 1575, aparece o primeiro livro de Medicina Legal, intitulado *Des Rapports et des Mayens d'Embaumer les Corps Morts*, da autoria de Ambroise Paré, onde são abordadas questões como o diagnóstico da virgindade, feridas, técnicas de embalsamamento e asfixias.

1.1.5) Período Científico

Em 1621, Paulus Zacchias organiza o verdadeiro guia da Medicina Legal como disciplina, uma grande obra denominada *Quaestiones Medico Legales Opus Jurisperitis Maxime Necessarium Medicis Peritilis*, sendo visto por muitos como o fundador da Medicina Legal (Nogueira T, 2013). Contudo, Fortunato Fidélis precedeu-o, tendo publicado um livro intitulado *De Relatoribus Libri Quator in Quibus e a Omnia quae in Forensibus ac Publicis Causis Medici Preferre Solent Plenissime Traduntur*, em 1602 (Magalhães C, 2010)

A partir do século XIX, a autópsia passou a ser permitida e a Medicina Legal afirma-se como disciplina científica intrínseca à justiça. Desta altura em diante, esta ciência

evoluiu rapidamente dada a progressão do conhecimento ao nível humano e científico, com a aquisição de novas técnicas e instrumentos (Nogueira T, 2013).

1.2) Organização médico legal e áreas de atuação

A medicina legal tem como objetivo a prestação de serviços no que respeita à assistência na aplicação da justiça, mas também compreende aspetos relacionados com a investigação e formação profissional. A medicina legal é uma disciplina transdisciplinar e, de um modo geral, engloba áreas tão diversas como: tanatologia forense, clínica médico-legal, psiquiatria forense, toxicologia forense, genética e biologia forense, antropologia forense, odontologia forense, criminalística, psicologia forense, etc.

A organização médico-legal em Portugal foi recentemente reformulada, sendo que actualmente se denomina o Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. (INMLCF, I.P.), tendo este como principal função a realização de perícias médico-legais e forenses. A sede do INMLCF, I.P. é em Coimbra, e possui duas delegações no Porto e Lisboa (das quais dependem os gabinetes médico-legais), incorporando essencialmente quatro serviços: clínica, patologia, toxicologia e genética. (Decreto-Lei n.º 166/2012 de 31 de julho). Cada um deles tem funções distintas e bem definidas:

- Patologia – realização de autópsias, estudo de peças anatómicas, embalsamamento e identificação de cadáveres;
- Toxicologia – exames e perícias químicas e toxicológicas, particularmente na determinação dos valores de álcool etílico, drogas de abuso, medicamentos, pesticidas, metais, produtos voláteis, monóxido de carbono, entre outros;
- Clínica – perícias e exames no vivo, nomeadamente quanto à avaliação do dano da integridade física e psicológica, ao nível das várias áreas abrangidas pelo direito (penal, civil, administrativo e do trabalho);
- Genética – exames e perícias ao nível dos vestígios biológicos e não-biológicos, essencialmente nas questões de investigação biológica da paternidade, identificação genética individual e criminalística biológica.

1.3) Génese da Toxicologia

A Humanidade desde sempre que tem utilizado as substâncias tóxicas tanto como método de ataque como de defesa na luta pela sua sobrevivência. Pesquisas arqueológicas revelaram a existência por parte dos homens primitivos de conhecimentos acerca dos venenos e a sua utilização através da colocação destes nas pontas das suas armas tornando-as mais letais.

Dos manuscritos mais remotos e relevantes que fazem parte da História da Toxicologia encontram-se os velhos papiros do Egito, nomeadamente o papiro de Ebers, datado de 1552 a.C.. Nele estão descritas invocações e práticas de artes mágicas às quais se recorriam para expulsar as doenças e variados remédios específicos (Cunha M, 2004).

Remonta ao século XVII a descrição, no sul de Itália, de uma praga de envenenadores que durante anos prosperaram e tornaram Nápoles o seu centro nuclear de ataque. Os tóxicos mais conhecidos nessa altura, eram o ouro pimento, o mercúrio, o cobre, o chumbo, o arsénio, o antimónio e o ouro e algumas das suas características e propriedades (Magalhães C, 2010).

Mesmo com o avanço dos séculos, a primitividade do Homem manteve-se e ainda nos dias de hoje não se está livre de tal prática horrenda, estando os envenenamentos na origem de vários casos mortais. Antes do século XIX não havia métodos de deteção de venenos no organismo devido à proibição da realização de autópsias e de análises químicas aos órgãos das vítimas, o que não permitia o avanço nesse campo. Iniciado esse século, os avanços nas áreas da química, da patologia, da fisiologia e da clínica médica foram céleres. O marco mais importante foi o reconhecimento da consciencialização do Estado, sobre a sua obrigação de proteção dos cidadãos, dos criminosos e das lesões industriais. O estudo das ciências descritas anteriormente, possibilitou a deteção das substâncias tóxicas permitindo deste modo o diagnóstico dos agentes causadores em situações de suspeita de envenenamento. A química contribuiu através da elaboração de métodos de análise de agentes tóxicos em tecidos e

órgãos. A Patologia, fornecendo os saberes das alterações no organismo provocadas pela acção das substâncias tóxicas e a Clínica interligando os sintomas apresentados pelos doente aos tecidos e órgãos afetados. O papel de destaque vai para a Clínica Médico-Legal que divulga dados importantes sobre a utilização letal das substâncias tóxicas a fim de proteger a sociedade e levar à implementação de procedimentos adequados à proteção dos trabalhadores industriais.

Mateo J.B. Orfila (1787-1853), assim se escreve o reconhecido nome de um dos fundadores da Toxicologia Moderna que, em 1814, publicou o Tratado de Toxicologia, uma obra de dois volumes que hoje é reconhecida como um clássico, tendo sido produzidas várias edições. Como experimentador que era, desenvolveu um determinado número de testes para identificar substâncias tóxicas. De todas as descobertas de Orfila, a mais relevante foi a de que os venenos, após a exposição do organismo a estes, são absorvidos no estômago e se concentram nos tecidos. Partindo deste conhecimento, trabalhou-se no desenvolvimento de métodos quantitativos por forma a detetar agentes tóxicos como o teste de Reinsch para a deteção de arsénio e mercúrio (1841). Com o avançar do tempo, surgiram novos métodos e técnicas especializadas e delicadas na deteção de crimes como é o caso da identificação através das impressões digitais, o exame microscópico de objetos suspeitos e os testes serológicos.

1.3.1) Toxicologia Forense

Com origem do grego Toxikon (arco, flecha), a Toxicologia é uma ciência multidisciplinar cujo objeto de estudo são os agentes tóxicos, suas propriedades e modo de atuação, a interação destes com o organismo e as respostas prejudiciais dessa interação tentando impedir o comprometimento de uma função orgânica ou a destruição de uma vida humana, ou seja, estabelecer o uso seguro dos agentes tóxicos.

A toxicologia forense utiliza como base de trabalho a toxicologia analítica para conseguir atingir o seu principal objetivo que é a deteção, qualificação e

quantificação de substâncias tóxicas presentes no organismo em causa. Tal como o próprio nome indica, o trabalho efetuado pelo toxicologista forense tem como finalidade auxiliar advogados e juizes em questões judiciais de modo a reconhecer, identificar e quantificar o risco envolvido durante a exposição do ser humano a substâncias tóxicas. Sustenta ainda a sua formação com conhecimentos de várias áreas que complementam a toxicologia moderna.

Se inicialmente a toxicologia forense estava limitada à tarefa singular de estabelecer a origem tóxica de um crime, estudando o cadáver com a simples intenção de provar a existência deste e identificá-lo, atualmente o campo de ação já se encontra mais alargado estando esta ciência presente tanto em perícias no ser vivo e no cadáver como em questões de saúde pública que impliquem a atividade laboral ou o meio ambiente. Nomeadamente no ser vivo, são efetuadas perícias para despistagem e confirmação de drogas de abuso comprovando-se eventuais estados de toxicodependência (Decreto-Lei nº15/93, de 22/01) e no âmbito da fiscalização do uso de substâncias psicoativas por parte dos utilizadores da via pública (Decreto Reg. Nº 24/98, de 30/10; Portaria nº 1006/98, de 30/11). No cumprimento deste último caso, o INML garante não só a cadeia de custódia das amostras como garante a realização dos exames de quantificação de álcool etílico no sangue e o rastreio de substâncias ilegais, consideradas legalmente como estupefacientes e psicotrópicas, através de análises à urina e ao sangue, respetivamente. Estas perícias têm como objetivo final avaliar o grau de intoxicação como circunstância qualificadora de delito, como causa de perigosidade ou de inimputabilidade.

Percebe-se deste modo, que a toxicologia forense tem vindo a tornar-se indispensável no esclarecimento de questões judiciais relacionadas com intoxicações, e não só, evidenciando os aspetos médico legais na procura da causa de morte por envenenamentos e situações de morbilidade provocadas por questões laborais.

Consta da literatura especializada, um grande leque de substâncias tóxicas como os pesticidas, os químicos industriais, as toxinas naturais e os venenos caseiros. No caso em estudo, serão abordados apenas o chumbo.

1.4) Tabela Nacional de Incapacidades (TNI)

A avaliação médico legal de alterações na integridade psíquica e física, é um campo de assinalável importância mas ao mesmo tempo de especial complexidade. Essa complexidade deve-se a variados fatores como seja a dificuldade na interpretação das sequelas, da subjetividade que está intrinsicamente ligada a alguns danos a avaliar, da impossibilidade de, em certas situações, submeter os sinistrados a exames complementares, da existência de situações de simulação ou dissimulação, entre outros. Em relação ao direito laboral, normalmente é avaliada a incapacidade de trabalho que resulta de acidente de trabalho ou doença profissional levando a uma perda da capacidade de ganho. No âmbito do direito civil, valoriza-se percentualmente a incapacidade permanente em geral, valorizando o princípio da reparação integral do dano, ou seja, é avaliada a incapacidade existente para a execução de tarefas do dia a dia, não excluindo o reflexo dessa incapacidade em termos de rendimento profissional (Diário da República, 2013).

A primeira TNI foi legislada em Portugal pela primeira vez através do Decreto-Lei nº 341/93, de 30 de Setembro, com o intuito de impor normas na avaliação de incapacidades por acidentes ou doenças de trabalho, determinando compensações justas para cada caso analisado (Magalhães C, 2010). Com a retificação de alguns pontos da TNI, o Decreto-Lei supra mencionado foi revogado tendo o Ministério do Trabalho e da Solidariedade Nacional aprovado uma nova TNI para Acidentes de Trabalho e Doenças Profissionais emitindo o Decreto-Lei nº 352/2007, de 23 de Outubro.

Com a entrada deste Decreto-Lei, foi imposto um ajuste nas percentagens de incapacidades de certas patologias. Neste decreto estão incluídas duas tabelas, sendo que uma está destinada aos casos de acidentes e doenças ocorridas a nível laboral e a outra inclui a reparação de dano em direito civil (Vasconcelos I, 2011). Estão mencionadas todas as substâncias consideradas potencialmente prejudiciais e que se podem encontrar nos locais de trabalho, bem como os valores de exposição considerados minimamente aceitáveis. Todo este esforço

na elaboração destes DL, permitiu criar um instrumento justo e adequado de avaliação neste ramo específico do direito, de modo a pontuar as incapacidades que resultam das alterações psíquicas e físicas (Magalhães C, 2010).

O termo doença profissional encontra-se legalmente definido no Decreto-Lei nº 76/2007, de 17 de Junho, como algo que resulta directamente das condições gerais de trabalho, fazendo parte integrante da lista de doenças inerentes ao exercício da profissão e que provocam incapacidade para a execução da mesma. Já o Decreto-Lei nº 99/2003, de 27 de Agosto, classifica como acidente de trabalho o sinistro (acontecimento súbito e imprevisto) sofrido por parte do trabalhador que ocorra no local de trabalho e durante o período de execução deste (inclui trajeto de ida e regresso do mesmo), não sendo obrigatório que a lesão sofrida dependa das funções que o trabalhador executa.

No que respeita aos metais pesados, o Decreto-Lei nº 274/89, de 21 de Agosto, contempla a protecção dos trabalhadores contra os riscos a que estão sujeitos devido à exposição ao chumbo nos locais de trabalho. Neste Decreto-Lei estão definidos os limites máximos permitidos para o chumbo, estabelecendo como valor limite de concentração de chumbo no ar $150\mu\text{g}/\text{m}^3$, referido a 8 horas diárias e 40 horas semanais.

A Directiva nº 2004/107/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de Dezembro, passa a ter importância jurídica através da criação do Decreto-Lei nº 351/2007, de 23 de Outubro, que fixa valores para as concentrações de arsénio e mercúrio, $6\mu\text{g}/\text{m}^3$ e $0,2\text{ mg}/\text{N m}^3$, respectivamente. São também estabelecidos métodos e critérios comuns que permitem identificar as concentrações destes metais na atmosfera. A existência dos metais já mencionados em locais de trabalho, no ambiente e nos produtos alimentícios está fortemente regulamentada com o intuito de proteger as pessoas da exposição e, consequentemente, dos danos que poderão provocar na saúde pública. Por essa razão, foi criado o Decreto-Lei nº 269/2002, de 27 de Novembro, que transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva nº 2001/22/CE, de 8 de Março, onde estão estabelecidos os métodos de colheita de amostras e de análise para o controlo oficial das concentrações de chumbo, mercúrio, cádmio e 3-MCPD existentes nos géneros alimentícios. Como complemento, foi criado o Regulamento nº 1881/2006, de 19 de Dezembro, que fixa os valores de ingestão semanal de chumbo em $25\mu\text{g}/\text{Kg}$ e de mercúrio em $1,6\mu\text{g}/\text{Kg}$.

A poluição ambiental tornou-se um grave problema de saúde pública nos países industrializados devido à presença de metais pesados como os mencionados na TNI. Com o estabelecimento de limites e regras a todos os níveis (ocupacional, industrial e ambiental), tem-se como objetivo minimizar e impedir os efeitos nocivos dos metais pesados no ser humano. Um exemplo gritante de como estas substâncias já fazem parte da sociedade actual, é o mercúrio. Este metal está presente em variados locais de trabalho, em diversos materiais e no meio ambiente nomeadamente nos rios e mares que, desde há muitos anos, têm sido contaminados com mercúrio exigindo uma monitorização rígida e uma legislação apropriada, defendendo sempre a saúde pública.

2) Metais pesados na Saúde Pública

2.1) Introdução

Saúde Pública é a ciência que promove a saúde, sua manutenção ou recuperação, através de um processo que envolve o bem estar social, mental e físico do ser humano. A Saúde Pública intervém tendo sempre em conta que a saúde é um recurso indispensável para o indivíduo e para a sociedade, devendo ser mantida através de um forte investimento nas condições de vida que criam, mantêm e protegem a saúde (ARS, 2013). Neste sentido, esta ciência organiza sistemas e serviços de saúde de modo a condicionar a ação da doença nas populações, recorrendo à implementação de ações de vigilância e a intervenções governamentais.

Edward Amory (1877-1957) criou a definição de Saúde Pública mais citada definindo-a como sendo “A arte e a ciência de prevenir a doença, prolongar a vida, promover a saúde e a eficiência física e mental mediante o esforço organizado da comunidade. Abrangendo o saneamento do meio, o controlo das infeções, a educação dos indivíduos nos princípios de higiene pessoal, a organização de serviços médicos e de enfermagem para o diagnóstico precoce e pronto tratamento das doenças e o desenvolvimento de uma estrutura social que assegure a cada indivíduo na sociedade um padrão de vida adequado à manutenção da saúde” (Magalhães C, 2010).

Através desta definição, entende-se que a promoção, recuperação e manutenção da saúde humana, torna-se deveras importante para a sobrevivência humana. No entanto, existem ameaças constantes à saúde como são exemplos os metais pesados.

2.2) Aspetos ambientais

O ar, apesar de fulcral para a sobrevivência da vida humana na Terra, encontra-se sobrecarregado com fatores causadores de potenciais doenças, como os microorganismos que contaminam os alimentos e a água, sendo uma das

principais causas de morbilidade e mortalidade em países desenvolvidos ou em desenvolvimento. No ar encontram-se difundidas substâncias químicas e partículas tóxicas cujos riscos para a saúde serão analisados mais adiante (Sousa B, 2009).

2.2.1) Poluição atmosférica

O ar atmosférico que cobre regiões com o predomínio de indústrias encontra-se impregnado de uma mistura de gases e partículas poluentes. Apesar de ter ganho uma maior relevância nestes últimos anos, a poluição atmosférica está longe de ser um fenómeno moderno. Decorria o ano de 1661, quando John Evelyn indicou a existência de bronquite, pneumonia e tuberculose nos habitantes de Londres provocadas pela inalação de “nada além de névoa impura e espessa, acompanhada de um vapor fuliginoso e imundo, que os torna desagradável por mil inconvenientes, corrompendo os pulmões e desordenando todo o *habitat* de seus corpos”. A primeira lei sobre controlo ambiental foi elaborada em 1306 por Edward I que especificava que: “quem for considerado culpado por queimar carvão, deverá ser condenado a perder a cabeça”. Como é facilmente perceptível, o que mudou em termos modernos foi a origem dos poluentes e os tipos de regulamentos impostos, hoje mais rigorosos, para controlar a emissão destes para a atmosfera (Robbins et al, 2010).

2.2.2) Poluição do ar em ambientes fechados

Com a mudança temporal, alguns hábitos foram também alterados e nos dias de hoje existe uma maior percentagem de pessoas “enclausuradas” em casa ou nos locais de trabalho, aumentando o potencial de poluição interno. O poluente mais comum é o fumo de tabaco no entanto, foi a exposição ao formaldeído que se tornou um problema global de saúde. Este facto deve-se à presença deste constituinte em materiais de construção e são potenciados por residências com poucas ventilações ou simples caravanas que são frequentemente o porto de abrigo de refugiados de desastres naturais (Robbins et al, 2010).

Em concentrações iguais ou superiores a 0,1 ppm de formaldeído, o indivíduo exposto sente dificuldades respiratórias, ardor nos olhos e garganta levando, caso não seja tratado rapidamente, à ocorrência de crises asmáticas.

2.3) Caraterísticas dos metais pesados

Os metais pesados definem-se quimicamente como um grupo de elementos posicionados entre o Cobre (Cu) e o Chumbo (Pb) na tabela periódica. Os metais pesados são assim designados por apresentarem um número atómico superior a 22 e não propriamente devido à sua densidade. Encontram-se à superfície terrestre estando em contato com todas as formas de vida existentes. No entanto, por serem altamente reativos e bioacumuláveis, o organismo humano não consegue metabolizá-los e eliminá-los de forma rápida e eficaz. Apresentam uma grande afinidade pelo oxigénio e pelo enxofre formando óxidos metálicos e sulfatos, respetivamente. Ora como no nosso organismo existe abundantemente estes dois tipos de compostos, a ligação será fortalecida e difícil de anular.

O tipo de interação, benéfico ou prejudicial, depende apenas da dose e da forma química que este apresente sendo que muitos metais são essenciais para o desenvolvimento de alguns organismos, como o cobalto e o zinco, e outros não apresentam nenhuma função, acumulando-se apenas no organismo tornando-se prejudicial para este (Rocha A, 2009). Os efeitos tóxicos dos metais pesados no organismo podem ser provocados por toxicidade aguda, quando expostos a uma dose única e excessiva, por qualquer via de absorção, ou por toxicidade crónica, quando há uma acumulação do agente tóxico devido a exposição contínua e prolongada a este.

2.4) Fontes de contaminação

Existem várias fontes de produção e exposição aos metais pesados, mesmo no dia a dia. No caso do chumbo, destacam-se as tintas com chumbo, pó e solos. Até à sua descoberta, as tintas utilizadas a nível doméstico e que continham chumbo, contribuíram para o aparecimento de casos de plumbémia especialmente em crianças (Magalhães C, 2010). Mesmo nos dias de hoje ainda existe o risco de intoxicação através da manipulação e ingestão de resíduos de tinta com chumbo, em zonas residenciais degradadas. Em idades mais baixas, a ingestão de forma compulsiva de produtos não alimentares tornou-se numa das principais causas de plumbémia. Está associada a escalões etários mais baixo porque este comportamento é caraterístico da ingestão de terra, manipulação de brinquedos conspurcados e ingestão de pedaços de tinta contendo chumbo. Por terem um sabor adocicado devido à presença de cromato

de chumbo, estas lascas de tinta tornam-se um perigo real para as crianças. O quadro clínico é de difícil diagnóstico e insidioso (Magalhães C, 2010).

Já as principais fontes de mercúrio são a queima de combustíveis fósseis, em particular carvões sulfúricos, a produção de cloro alcalinos, trabalhos em minas, incineradoras de lixo, crematórios e vulcões. O mercúrio elementar e inorgânico têm sido utilizados em medicamentos a nível mundial, nomeadamente em vacinas administradas às crianças.

A exposição a níveis elevados de arsénio ocorrem principalmente no local de trabalho, em zonas situadas perto de depósitos de resíduos perigosos ou em áreas cujos níveis naturais de arsénio são elevados. Quando ocorre uma exposição a quantidades reduzidas de arsénio mas durante períodos longos, pode provocar descoloração da pele e o aparecimento de verrugas. Normalmente o ser humano está exposto ao arsénio através da ingestão em pequenas quantidades nos alimentos e na água ou através da inalação de ar contaminado.

2.5) Toxicocinética

É definida como sendo um conjunto de processos correspondentes à transformação do princípio ativo, ou seja, tendo em conta o tempo, avalia os diferentes processos de transformação de um princípio ativo no organismo. Esses processos incluem a absorção, distribuição e acumulação, biotransformação e eliminação. Nesta situação em particular, vai-se monitorizar não a transformação de um princípio ativo mas sim dos tóxicos em estudo.

2.5.1) Absorção

No caso dos metais pesados, a absorção ocorre principalmente através da inalação e da ingestão. Por serem lipossolúveis atravessam as membranas biológicas, penetrando na circulação sanguínea. Caso ocorra uma absorção gastrointestinal, o químico passa pelo fígado antes de atingir a circulação sendo, portanto, absorvidos. A quantidade de tóxico absorvido vai depender da sua solubilidade nas membranas, do grau de ionização e também do tamanho e forma da molécula uma vez que, quanto maior for a molécula, menos permeável é a membrana. O facto de serem esféricas facilita a sua passagem pelo que a forma é algo a ter em conta. Existem vários mecanismos de transporte utilizados na absorção. No caso destes químicos, devido à sua

lipossolubilidade, há passagem através das membranas por difusão simples, dependendo do gradiente de concentração.

2.5.2) Distribuição e acumulação

Após a absorção, os tóxicos são distribuídos pelo organismo, apresentando fatores condicionantes como seja a solubilidade do agente químico, o grau de ionização, a afinidade química do tóxico com moléculas orgânicas, maior vascularização dos órgãos-alvo, composição dos tecidos e capacidade de biotransformação apresentadas. Os químicos, durante a sua distribuição, podem ocupar três compartimentos: plasmático, intersticial e intracelular. O terceiro passo consiste na acumulação da substância nos locais de ação ou em órgãos processadores que eliminam os químicos. Esta etapa inicia-se com a ligação dos tóxicos às proteínas plasmáticas que vão percorrer todos os sistemas.

Mais uma vez, a lipossolubilidade permite aumentar a capacidade de acumulação de tóxicos pois facilitam a rápida absorção e distribuição por todo o organismo. O fígado e os rins são excelentes órgãos de armazenamento pois são bastante irrigados. Estes órgãos para além de poderem acumular substâncias participam também nos processos de eliminação, nomeadamente, na biotransformação, no caso do fígado, e na eliminação através dos rins. Não foram ainda inteiramente esclarecidos os mecanismos de acumulação mas é sugerido que envolva o transporte ativo.

2.5.3) Biotransformação

Nesta fase, pretende-se tornar os tóxicos fáceis de excretar, transformando-os em compostos mais polares para não serem reabsorvidos. Os produtos resultantes deste mecanismo são menos lipossolúveis, perdendo a capacidade que tinham de se ligarem às proteínas. Geralmente, a biotransformação torna os tóxicos inativos, para que estes não causem malefícios mas existem situações onde a metabolização do tóxico leva à produção de metabolitos ainda mais tóxicos, falhando na sua função.

A biotransformação é um processo complexo que engloba reações de oxidação, redução, hidrólise e conjugação que se dividem em duas fases: as reações pré-sintéticas, onde há ativação, inativação ou alteração da atividade do tóxico, e as reações sintéticas, que permitem a conjugação de agentes parcialmente biotransformados com o substrato endógeno formando produtos inativos excretados pela urina. Ainda não se sabe como as dioxinas são metabolizadas mas supõe-se que, no caso, da 2,3,7,8-TCDD esta sofre reações de hidroxilação, conjugação e

desalogenação uma vez que foram detetadas no fígado tóxico cujas reações sofridas eram semelhantes, reações estas efectuadas pelo citocromo P450.

2.5.4) Eliminação

A última fase da farmacocinética, consiste na eliminação de substâncias tóxicas inalteradas ou dos produtos resultantes da sua biotransformação. Existem várias vias de excreção, referidas e desenvolvidas de seguida:

- Excreção renal: Neste processo, a eliminação dos tóxicos é efetuada pela urina através de processos de filtração glomerular passiva, difusão tubular passiva e secreção tubular activa. Na filtração glomerular existem condicionantes como o tamanho, forma, solubilidade, pKa do tóxico e pH do meio e da urina. Em certas situações, ocorre a reabsorção de algumas moléculas por difusão passiva ou por transporte ativo;
- Excreção pulmonar: Nesta situação são geralmente eliminados tóxicos em forma de gases, vapores e partículas também inalteradas ou como metabolitos resultantes da biotransformação. Contrariamente à excreção renal, a eliminação nos pulmões é efetuada apenas por simples difusão. A percentagem de tóxico excretado de forma inalterada vai depender da intensidade com que se ventila, da perfusão pulmonar entre outras características importantes. A solubilidade no sangue é de extrema importância pois quanto mais solúvel for no sangue, mais lentamente é eliminada;
- Excreção biliar: Os tóxicos ingeridos na alimentação, são absorvidos a nível intestinal alcançando o fígado mesmo antes de se distribuírem por todo o organismo. Tendo este órgão a função de biotransformar, é possível que as substâncias sejam absorvidas e biotransformadas sendo eliminadas sem que ocorra a sua distribuição. Neste tipo de eliminação, os sistemas de transporte utilizados são o transporte ativo e a difusão simples;
- Suor e saliva: Em termos quantitativos, estas vias são pouco importantes dado que excretam apenas quantidades vestigiais de tóxico, insuficientes para impedir a produção de efeitos nocivos. Vai depender da maior ou menor lipossolubilidade do tóxico e apenas têm importância na ocorrência de dermatoses;
- Leite materno: Este alimento torna-se importante não para a mulher mas sim para o bebé uma vez que elimina grandes concentrações de metais pesados que vão ser ingeridas pelo lactente. O bebé não será apenas afetado pelo leite materno, também a barreira placentária é bastante permeável logo os tóxicos

penetram nesta barreira, atingindo o feto. Os tóxicos chegam ao leite por difusão simples e, devido ao facto de conter muitos lípidos, apresenta um meio propenso à acumulação destas substâncias. Outra vantagem do leite é o facto de apresentar um pH ligeiramente mais ácido do que o do sangue o que faz com que os químicos tendam a se concentrar no leite produzido. Todos estes aspectos apoiam a ingestão de doses elevadas de tóxicos por parte da criança;

- Excreção gastrointestinal: As fezes resultam do armazenamento de compostos que não são úteis excretando também substâncias químicas que não foram absorvidas ou que acabam por ser excretadas pelo trato gastrointestinal. Os compostos lipossolúveis, as dioxinas, têm bastante dificuldade em serem excretadas via fecal uma vez que podem ser reabsorvidas aumentando o seu tempo de semi vida.

2.6) Toxicodinâmica

Com o intuito de avaliar os danos efetuados na saúde por metais pesados, realizaram-se testes toxicológicos em animais e estudos epidemiológicos. Os testes em animais apresentam uma limitação que é a dificuldade em extrapolar os dados obtidos para o Homem. No entanto, fornecem provas e resultados que permitem avanços importantes. Uma forma de minimizar as diferenças, é escolher um animal cujas respostas à poluição sejam similares à do ser humano. Como se verifica, apesar da utilização de animais como cobaias ser fortemente contestada, estes ensaios tornam-se essenciais para a sobrevivência humana permitindo adquirir novos conhecimentos e prever os efeitos nocivos que estes irão provocar. É aqui que entra a fase toxicodinâmica que avalia a interação do tóxico com o recetor em causa, prevendo os efeitos nefastos que advém desta interação. Após o tóxico ser absorvido, distribuído, biotransformado e eliminado, difunde-se no local de ação, interagindo com estruturas celulares causando o respetivo efeito tóxico. A idade, o sexo, o estado imunitário e o peso são características que vão condicionar a ligação entre o recetor e o tóxico podendo provocar um aumento ou uma diminuição da intensidade da resposta bem como os efeitos que se manifestam.

2.7) Tratamento

O primeiro passo da terapia para intoxicação por chumbo, é o afastamento do organismos da fonte de exposição, sendo em muitos casos, a única terapia que se deve efetuar mas todas as hipóteses de tratamento devem ser analisadas. Em casos de

maior gravidade, torna-se obrigatória a terapêutica por quelação, não sendo a decisão de prosseguir, isenta de riscos. As drogas utilizadas na quelação são suficientemente potentes para inativar o metal existente nas células, o que pode em simultâneo lesar as próprias células. Apesar deste tratamento diminuir a concentração de chumbo no sangue, não reverte ou diminui os efeitos comportamentais ou neurofisiológicos provocados por este metal. É aconselhada a administração de BAL (Dimercaprol) e D-penicilamina. Esta terapia é realizada exclusivamente em meio hospitalar. Devem sempre ser implementadas ações de esclarecimento e educação para a manutenção da saúde, prestando especial cuidado às potenciais fontes existentes de exposição ao chumbo.

Tal como no caso do chumbo, também para o mercúrio o tratamento mais importante e mais eficaz passa pela identificação da fonte de mercúrio e o fim da exposição a este. A Food and Drug Administration (FDA) desde 1997 que analisa cuidadosamente a utilização de mercúrio em produtos biológicos e preparações farmacêuticas, particularmente naqueles utilizados por crianças ou mulheres grávidas. Também está em desenvolvimento uma parceria com a indústria farmacêutica e a comunidade médica para diminuir ou eliminar a exposição ao mercúrio em vacinas e outros produtos de saúde. Em relação à exposição ao metilmercúrio, que ocorre através da ingestão de peixe, deve ter-se especial atenção às mudanças nas dietas que podem afetar o consumo de proteínas e nutrientes essenciais durante a gravidez tornando-se mais perigosas para o feto do que o risco pouco definido associado ao metilmercúrio no peixe.

Contrariamente aos metais falados anteriormente, o arsénio tem como base de tratamento a eliminação do tóxico presente no organismo, seja através de lavagem gástrica ou da administração de dimercaprol.

A melhor forma de determinar exposições recentes ao arsénio é a análise à urina (1 a 2 dias após o contacto), enquanto medindo no cabelo ou nas unhas pode ser útil para detetar elevados níveis de exposição que ocorreram nos 6-12 meses anteriores. Deve-se ter em atenção que estes testes apenas determinam se a pessoa esteve exposta ao arsénio em níveis acima da média, não prevendo se os níveis existentes no corpo são ou não prejudiciais para a saúde.

2.8) Mecanismo de ação dos agentes químicos

Apesar da existência de bilhões de substâncias químicas tóxicas, apenas uma pequena parte foi estudada e testada para os efeitos na saúde. São várias as agências que investigam os níveis permissíveis de exposição a agentes químicos ambientais mas existem variados fatores que interagem com estes como a idade, a predisposição genética, o nível de sensibilidade individual, entre outros. Mesmo assim, os resultados desses estudos são úteis para comparar populações específicas e fazer uma estimativa sobre o risco da doença em indivíduos expostos permanentemente.

Chegado este ponto, importa definir xenobiótico para uma melhor compreensão do texto em desenvolvimento. Xenobiótico é, portanto, uma substância química exógena (fora do organismo) existente no meio ambiente (ar, água, solo) e alimento que é absorvido pelo organismo através da inalação, ingestão e contato com a pele, como é possível verificar na ilustração 1.

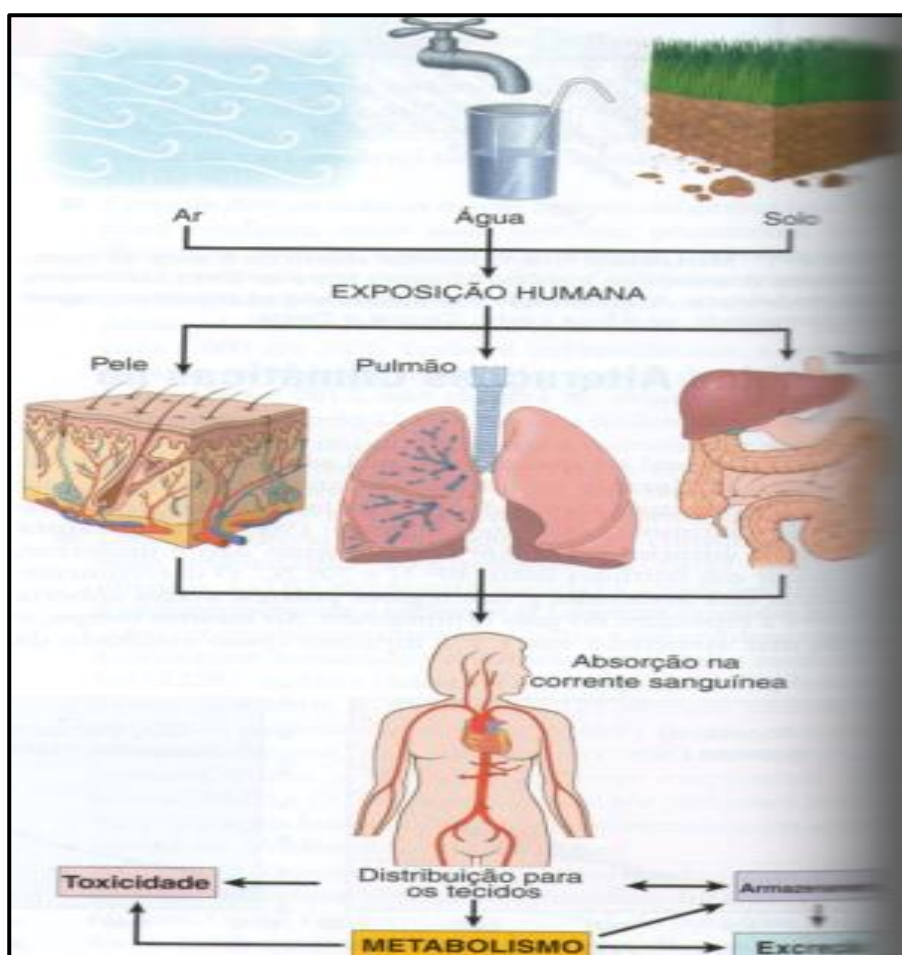


Ilustração 1 - Exposição humana a poluentes (Robbins et al, 2010)

Após a entrada do xenobiótico no corpo, existem dois tipos de metabolização: um desses processos leva à decomposição do xenobiótico em componentes hidrossolúveis que são posteriormente excretados; no outro processo, ocorre uma ativação do agente (metabolito reativo) que leva à produção de um metabólito tóxico. A metabolização só é possível devido à atividade do sistema enzimático citocromo P-450 (CYP) que catalisa reações ou de destoxificação de xenobióticos, ou de transformação destes em compostos ativos cuja ação provoca lesão celular (Ilustração 2).

Os metais pesados mais comumente interligados a efeitos nocivos no organismo humano são o chumbo, mercúrio e arsênio, já incluídos na TNI abordada anteriormente.

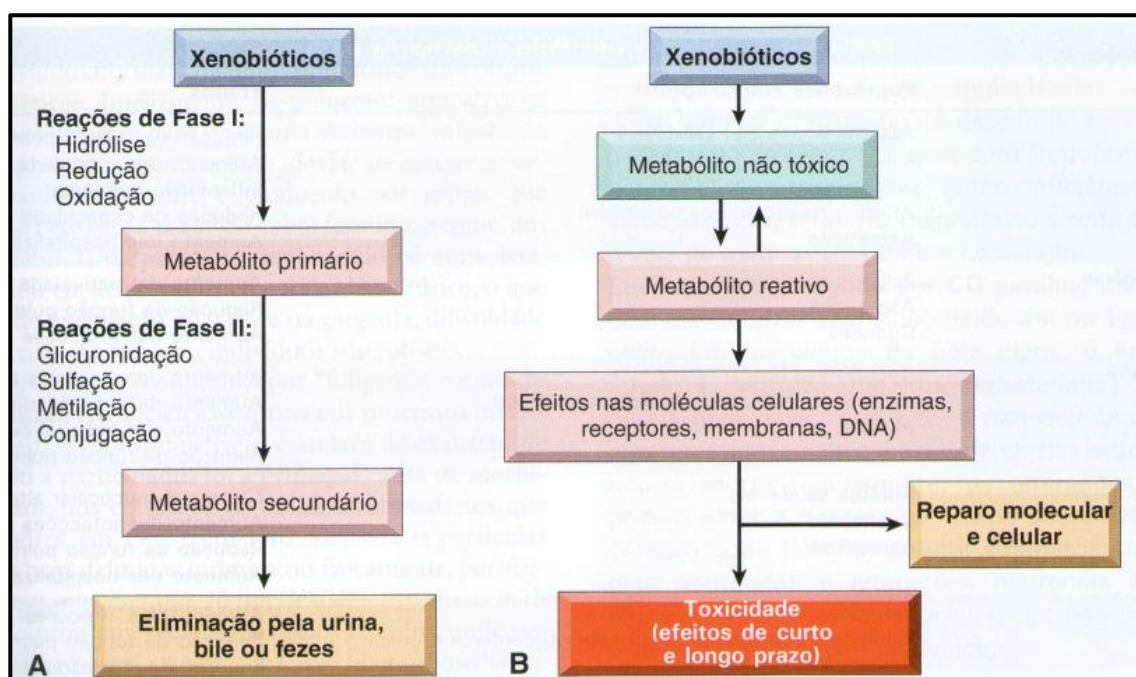


Ilustração 2 - Metabolismo dos xenobióticos (Robbins et al, 2010)

2.8.1) Chumbo

O chumbo penetra no organismo humano através da inalação de ar e da ingestão de alimentos e água contaminados. Grande parte do século XX teve como principais fontes de contaminação por chumbo, as tintas utilizadas na maioria das habitações e a gasolina. Mesmo com imposições sobre os limites deste metal presentes nas tintas, ainda hoje continua a ser um perigo real para a saúde pública particularmente para as crianças. Em 2007, foram recolhidos em grande escala brinquedos que continham chumbo alertando a população para os perigos do contato constante com esta substância tóxica.

A nível ocupacional são diversas as fontes de chumbo existentes no meio ambiente, sendo a via de intoxicação mais frequente a inalatória. São fontes como a mineração, fundição, baterias e tintas a *spray* que constituem os perigos ocupacionais. Os mais jovens são afetados através da contaminação dos solos, da descamação de tintas contendo chumbo de habitações antigas e da ingestão de água potável, cereais, vegetais e frutas podendo a ingestão diária chegar às 200mg.

No organismo humano, o chumbo inorgânico não é metabolizado mas antes complexado a macromoléculas sendo diretamente absorvido, distribuído e excretado. O chumbo orgânico, este sim, é metabolizado no fígado, transformando-se em chumbo triálquilo e chumbo inorgânico, responsável pelos danos nocivos. A quantidade absorvida não depende só da concentração e do tempo de exposição mas também das propriedades físico químicas do metal como a solubilidade e o tamanho da partícula.

Após a absorção, o chumbo difunde-se na corrente sanguínea distribuindo-se por todo o organismo, estando a maior parte do metal associado aos eritrócitos. É então distribuído entre três compartimentos: o primeiro é o sangue, que se encontra em comunicação direta com os restantes; o segundo são os tecidos moles como fígado e rins e terceiro, com os tecidos rígidos como ossos e dentes. Neste último, são incorporados entre 80% e 85% do chumbo em circulação, competindo com o cálcio sendo que o tempo de semi vida nestes está entre 20 e 30 anos, nos tecidos moles cerca de 40 dias e no sangue cerca de 36 dias. O chumbo consegue atravessar a membrana placentária, ou seja, é considerada uma substância teratogénica.

No caso particular das crianças, porque estão em fase de desenvolvimento, pode ocorrer um envenenamento subclínico de chumbo quando expostas a concentrações inferiores a 10µg/dl, concentração mínima para provocar toxicidade, levando a uma baixa capacidade intelectual, hiperatividade e habilidades organizacionais deficitárias.

Nos adultos é menos comum o envenenamento por chumbo estando na maioria dos casos relacionados com o risco ocupacional. A contaminação atinge mais as crianças porque apresentam uma maior capacidade de absorção intestinal do que o adulto e uma barreira hematoencefálica mais permeável, mais suscetíveis à ocorrência de lesões cerebrais que podem ser leves ou maciças e letais, tendo sido já descritas deficiências sensoriais, motoras, intelectuais e psicológicas em jovens crianças.

Na Ilustração 3 e 4, estão descritos os efeitos nocivos do chumbo em crianças conforme a concentração de chumbo presente no sangue e nos adultos os órgãos-alvo e suas respostas inflamatórias (Robbins et al, 2010).

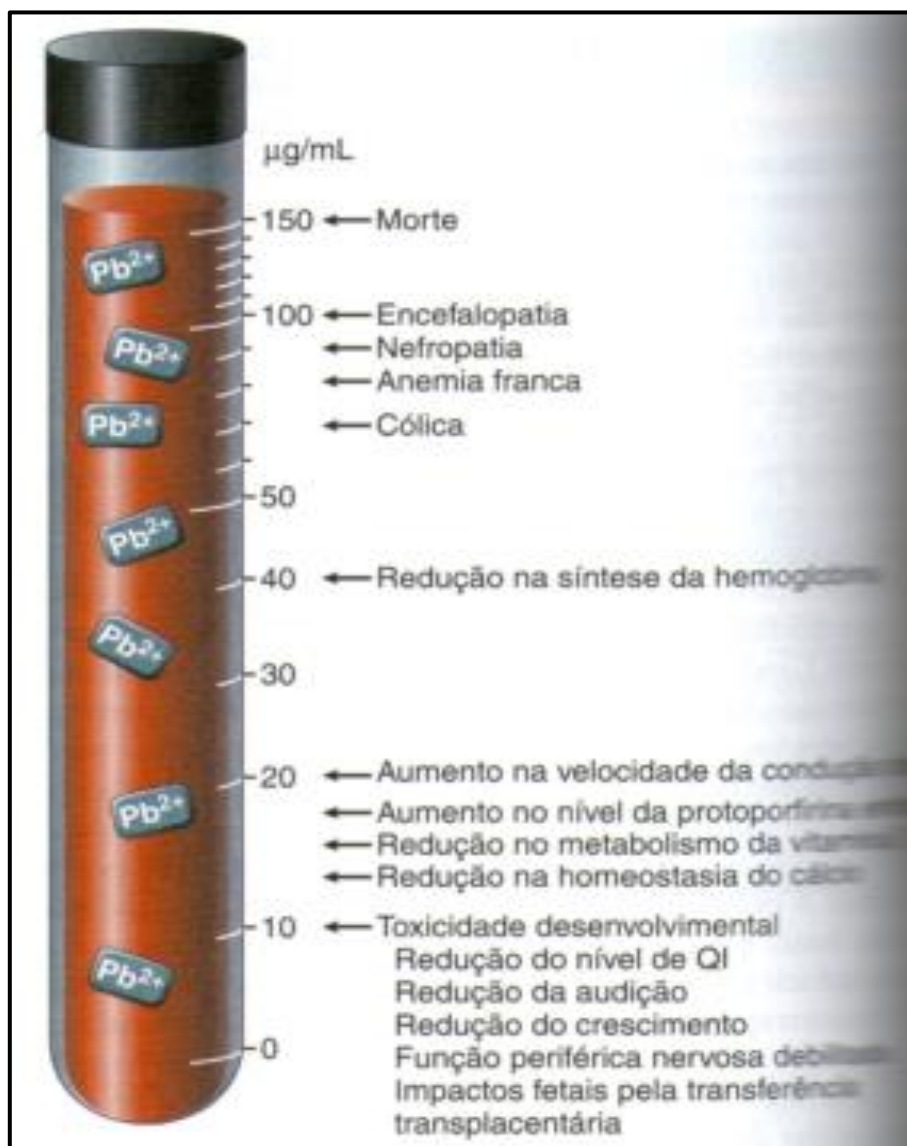


Ilustração 3 - Efeitos do envenenamento por chumbo em crianças (Robbins et al, 2010)

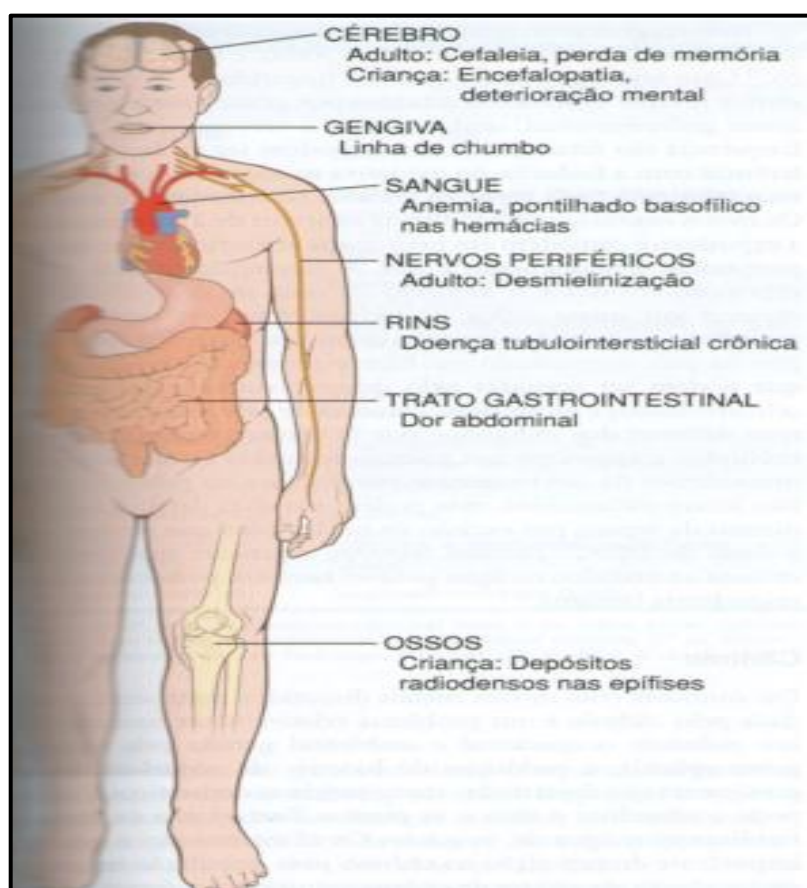


Ilustração 4 - Características patológicas de envenenamento por chumbo nos adultos

O diagnóstico de envenenamento por chumbo requer uma boa avaliação e um acompanhamento constante da evolução do doente. Após o seu diagnóstico, o tratamento inicial passa pela tentativa de anular a fonte de contaminação ou o contato do doente com esta. Nas situações agudas, pode ser necessária a realização de uma lavagem gástrica com água ou sulfato de sódio 1%, juntamente com a ingestão de leite e laxantes à base de sulfato de magnésio.

O primeiro passo é a verificação da concentração sanguínea de chumbo antes do início do tratamento com quelantes. Se os níveis de chumbo no sangue forem superiores a 50µg/dl, são administrados em simultâneo por via intramuscular, o edetato disódico de cálcio (CaNa_2EDTA) e o dimercaprol devido aos seus efeitos sinérgicos. O succimer é o terceiro quelante que se administra, por via oral, sendo também bastante eficaz.

2.8.2) Mercúrio

O uso do mercúrio pelo Homem data do tempo das pinturas das cavernas onde foi utilizado como pigmento. Depois disto, foi ainda incluído como constituinte de cosméticos, de remédios para a sífilis e como componente de produtos diuréticos. O envenenamento através da inalação de vapores deste metal, foi reconhecido há muito tempo, sabendo que se encontra associado a tremor, gengivite e comportamento bizarro.

O mercúrio apresenta três formas químicas distintas capazes de provocarem alterações fisiológicas nos seres vivos. São elas: o mercúrio elementar (Hg), compostos inorgânicos (HgCl_2) e compostos orgânicos (CH_3Hg^+). O mercúrio inorgânico, que se forma a partir da desgaseificação natural da crosta terrestre ou da contaminação industrial, é metabolizados em compostos orgânicos pelas bactérias. O derivado do mercúrio com maior risco para a saúde pública, é o metilmercúrio. Como sal, $\text{CH}_3\text{CHgCl}^-$, este encontra-se dissolvido na água, via de fácil acesso à cadeia alimentar, contaminando peixes que serão depois ingeridos pelo homem. A população em geral não tem a percepção do risco enorme que corre tanto ao ingerir peixe contaminado como a inalar os vapores de mercúrio que, por serem inodores e incolores, são impercetíveis tornando-se perigosos nomeadamente para as crianças e grávidas pois este composto tem a capacidade de atravessar as barreiras hematoencefálica e placentária. A solubilidade apresentada pelos lípidos tanto do metilmercúrio como do mercúrio metálico facilita a acumulação de ambos no cérebro.

Conclui-se deste modo que, dependendo do composto de mercúrio em causa, as sequelas são diferentes no que respeita à quantidade e qualidade. As sequelas crónicas resultam duma exposição crónica a uma ou todas as formas de mercúrio cujos sintomas predominantes incluem tremor, alterações de personalidade, *parkinsonismo* e demência. No caso de uma inalação significativa de mercúrio elementar, pode levar à ocorrência de uma fibrose pulmonar.

2.8.3) Arsénio

O arsénio ficou conhecido pelo seu uso, na Itália Renascentista, como arma mortal entre famílias reais sendo apelidado nessa altura de “o veneno dos reis e o rei dos venenos”. Atualmente este método de crime é raro mas a exposição ao arsénio tornou-se um problema grave de saúde em várias partes do mundo.

As principais formas de arsénio apresentam-se como compostos inorgânicos e orgânicos, que pode ser tri ou pentavalente. As mais tóxicas são as substâncias trivalentes de trióxido de arsénio, arsenito de sódio e tricloreto de arsénio. A sua ingestão em grandes proporções causa danos tóxicos agudos como perturbações graves ao nível gastrointestinal, cardiovascular e do sistema nervoso central que frequentemente se revelam fatais. A sua capacidade para provocar danos assim tão graves, deve-se ao facto destes compostos interferirem com a fosforilação oxidativa mitocondrial repondo os fosfatos no trifosfato de adenosina.

Como estão presentes em águas minerais, em animais, sendo utilizado como promotor de crescimento animal, e na alimentação humana, conclui-se que a grande parte destes compostos entra no organismo humano por via oral. Cerca de 25% a 40% dos casos, a via preferencial é a via inalatória mas também a dérmica como uma via explorada, apesar de não estar ainda quantificada. A absorção está dependente do tamanho da partícula e da sua forma química sendo que as formas pentavalentes são melhor absorvidas no intestino e as formas trivalentes mais solúveis nas membranas lipídicas.

Inicialmente o arsénio encontra-se presente no sangue, ligado à globulina. De seguida, é distribuído por todo o organismo, ficando armazenado no fígado, rins e pulmões, numa primeira fase, e mais tarde nas unhas e cabelo. Apresenta ainda a capacidade de substituir o fósforo nos ossos podendo lá permanecer durante vários anos.

Quanto aos danos que o arsénio provoca, estão comprovados efeitos neurológicos que consistem em neuropatia sensoriomotora, após duas a oito semanas depois de exposto. Se a exposição for crónica, há um grande aumento do risco de desenvolvimento de cancro, nomeadamente na pele e nos pulmões.

2.9) Vias de absorção dos metais pesados

Os metais pesados tornaram-se uma ameaça à Saúde Pública não só por estarem presentes em vários contextos da vida humana mas também porque provocam danos em toda e qualquer actividade biológica. Por essa razão, existem tantas respostas como tipos de actividade biológica. O que define a predominância de um tipo de resposta em detrimento de outra, é o componente biológico atingido e lesado. A imagem seguinte explica o processo de metabolização após exposição aos metais pesados através da ingestão, da inalação e da absorção.

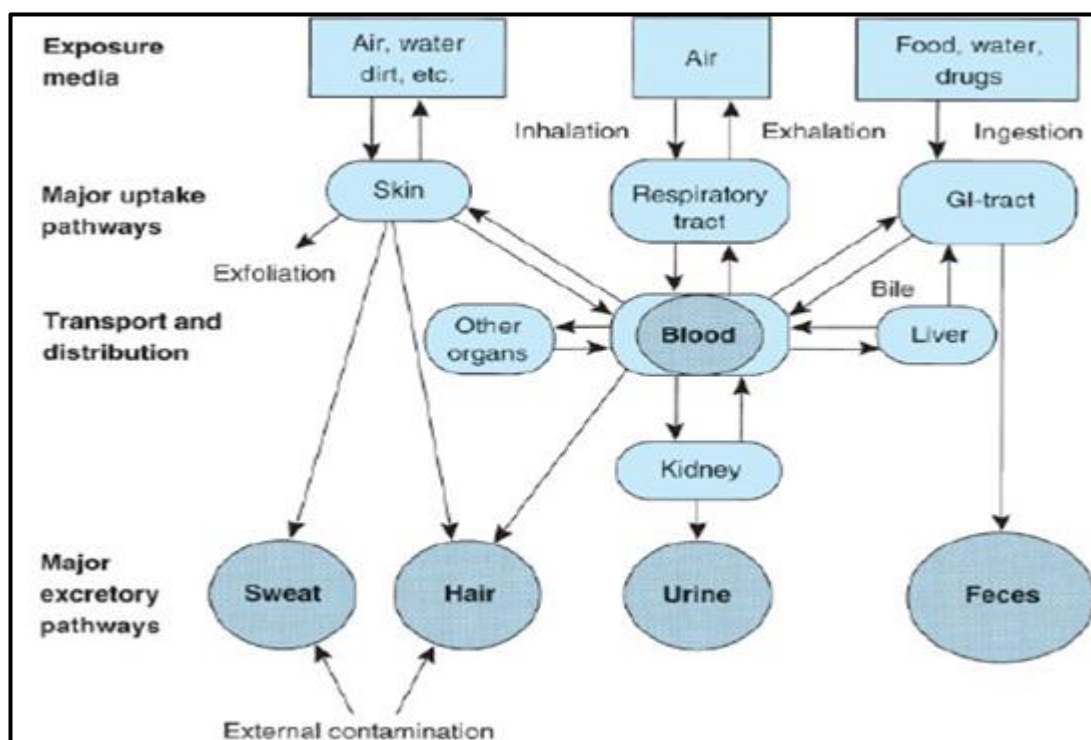


Ilustração 5 - Vias de contaminação

Tendo em conta que os metais pesados definidos pela TNI provocam efeitos prejudiciais irreversíveis e até mesmo a morte, percebe-se que o tema em desenvolvimento apresenta extrema importância na vertente médico-legal como forma de instruir, preparar e alertar para a ocorrência de novas causas de morbilidade e mortalidade, uma vez que os metais pesados se apresentam como um problema global cada vez mais comum na sociedade atual.

3) Inflamação e cancro

3.1) Visão geral da inflamação

Um dos mecanismos que se tornou essencial para a sobrevivência dos organismos, foi a sua capacidade para eliminar tecidos lesados ou necróticos e corpos estranhos que ataquem o sistema imunitário, como os microrganismos. À resposta que desencadeia este mecanismo denomina-se de inflamação. Sem este mecanismo, as infeções teriam a vida facilitada, impedindo a cicatrização dos tecidos. A única questão que levanta problemas para a Medicina, sendo esta a ligação à Medicina Legal, é a ativação inapropriada deste mecanismo ou o seu descontrolo causando desordens variadas.

Sabe-se que a inflamação é uma reação complexa que ocorre nos tecidos, havendo envolvimento dos vasos sanguíneos e dos leucócitos. As principais defesas do organismo contra corpos estranhos são as proteínas plasmáticas e os leucócitos circulantes bem como os fagócitos teciduais. A presença destes no sangue, permite-lhes alcançar qualquer local no organismo onde sejam necessários, destruindo os corpos invasores que se encontram nos tecidos.

As reações tanto celulares como vasculares que se iniciam num processo de inflamação, são ativadas como resposta a estímulos inflamatórios, dando início à inflamação. Serão os mediadores que irão determinar a amplitude do processo inflamatório, determinando o seu padrão, agressividade e manifestações clínicas e patológicas.

Assim que o processo inflamatório termina, com a eliminação do agente agressor, a reação é rapidamente resolvida dissipando-se os mediadores e os leucócitos, como têm tempo de semi vida curto, autoeliminam-se. São, nesta altura, ativados os mecanismos antinflamatórios que controlam a resposta e tentam impedir que esta cause dano excessivo no organismo. O processo inflamatório encontra-se interligado com o mecanismo de reparo. A inflamação não só destrói e elimina os agentes agressores como, ao mesmo tempo, ativa uma série de eventos que permitem curar o tecido lesado. Durante este processo, o tecido danificado é substituído devido à regeneração das células parenquimatosas por tecido fibroso.

Em algumas situações, a inflamação torna-se um processo prejudicial pois os mecanismos ativados para destruir os organismos invasores e tecidos necrosados têm a capacidade para danificar os tecidos sãos. Nesta situação, se a inflamação for

erradamente direcionada ou não controlada adequadamente, um mecanismo que seria de defesa passará a ser a causa da doença. Na medicina clínica, este processo merece grande atenção pois as reações inflamatórias estão subjacentes a doenças crônicas muito comuns como a fibrose pulmonar, e a reações de hipersensibilidade a fármacos ou toxinas que põem em risco a vida (Robbins et al, 2010). A inflamação, apelidada de “assassino silencioso”, está relacionada com uma ampla diversidade de doenças que não resultam de agressões externas ao organismo como, por exemplo, a diabetes tipo II.

Existem evidências descritas na bibliografia que apontam para que a nível molecular as doenças crônicas, incluindo o cancro, são causadas por uma resposta inflamatória desregulada. A identificação de fatores de transcrição tais como NF-B, AP-1 e os produtos dos seus genes, tais como o fator de necrose tumoral, interleucina-1, interleucina-6, as quimiocinas, ciclo-oxigenase-2, 5-lipoxigenase, metaloproteases da matriz, fatores de crescimento endotelial vascular, moléculas de adesão e outros têm constituído a base molecular para o papel da inflamação no cancro, sendo o alvo das mais recentes pesquisas acerca deste tema.

A inflamação é o mecanismo central, presente em todos os organismos vivos, responsável pela reparação dos tecidos após ocorrência de um dano. Numa primeira fase a inflamação crónica e mais tardiamente o mecanismo da inflamação crónica.

As vias inflamatórias poderão ser ativadas por fatores ambientais tais como: o tabaco, o *stress*, agentes dietéticos (já alguns descritos), obesidade (condição não unanime na comunidade científica), álcool, agentes infecciosos, irradiação e estímulos ambientais (os metais pesados, contribuem cada vez mais para estes dados, não só os metais contemplados na TNI como também o cádmio, mais recentemente, associado ao carcinoma renal) , que juntos são responsáveis por cerca de 95% de todos os cancros.

Estas vias têm sido implicadas na transformação, na sobrevivência, na proliferação, na invasão, na angiogénese, em metástases, na quimio resistência, e radio resistência do cancro, tanto que a sobrevivência e proliferação de muitos tipos de células cancerígenas parecem ser dependentes da ativação destes percursos inflamatórios.

O fato destas vias terem qualquer papel na prevenção, progressão, diagnóstico, prognóstico ou tratamento de recorrência do cancro em pacientes, e uma temática em constante revisão. Há também referência a biomarcadores como inibidores inflamatórios que poderão ter um papel importante na prevenção e no tratamento do cancro.

Junior Peek *et al.*, (2005) demonstraram que o papel desempenhado pela inflamação no desenvolvimento do cancro é considerado de grande importância divulgando um documento que descreve com precisão, os processos pelos quais as células cancerosas conseguem confundir e perverter os mecanismos de cura do organismo. Demonstrando que da mesma maneira que as células imunológicas agem para reparar as lesões, as células cancerosas devem produzir os fatores da inflamação para sustentar e manter o crescimento tumoral em desenvolvimento.

A inflamação crónica e persistente contribui para o desenvolvimento do cancro e pode predispor à carcinogénese. As infeções que levam à inflamação estão envolvidas na patogénese de aproximadamente 15-20% dos tumores humanos. No entanto, mesmo os tumores que não estão associados epidemiologicamente a agentes patogénicos são caracterizados pela presença de uma componente inflamatória no seu microambiente.

Marcas de inflamação associadas a cancro incluem a presença de leucócitos infiltrantes, citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, mensageiros lipídicos e enzimas que degradam a matriz. Sabe-se que a inflamação aguda, a primeira a ser ativada, é uma resposta rápida do hospedeiro que encaminha os leucócitos e proteínas do plasma (anticorpos), para o local lesado. Este tipo de inflamação apresenta três componentes principais: 1) alteração no calibre dos vasos sanguíneos levando a um aumento de fluxo sanguíneo; 2) mudanças estruturais dos pequenos vasos facilitando a saída dos anticorpos e leucócitos da circulação; 3) saída dos leucócitos da microcirculação, acumulando-se no foco da inflamação e ativando a sua função, eliminar o organismo agressor. Na ilustração 6, estão evidenciadas as principais manifestações locais da inflamação (Robbins et al, 2010).

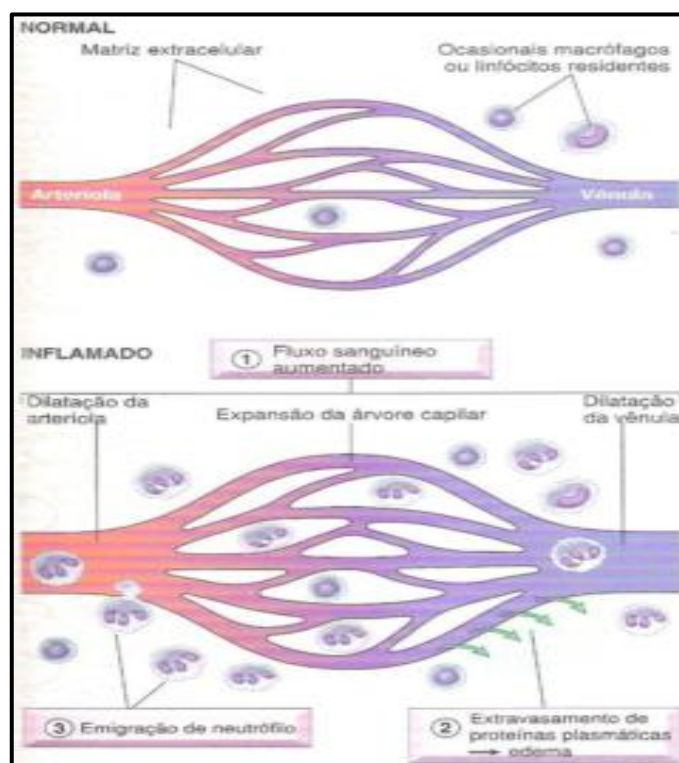


Ilustração 6 - Principais manifestações locais da inflamação

Em relação às citocinas sabe-se que estas são proteínas produzidas por variados tipos de células que regulam as funções de outras células. Conhecidas por estarem desde sempre envolvidas nas respostas celulares imunes, as citocinas apresentam um papel importante tanto na inflamação crônica como na aguda. Os mais importantes são a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF).

Para uma melhor compreensão do mecanismo de ação do processo inflamatório, coloca-se duas ilustrações que resumem todo esse mecanismo.

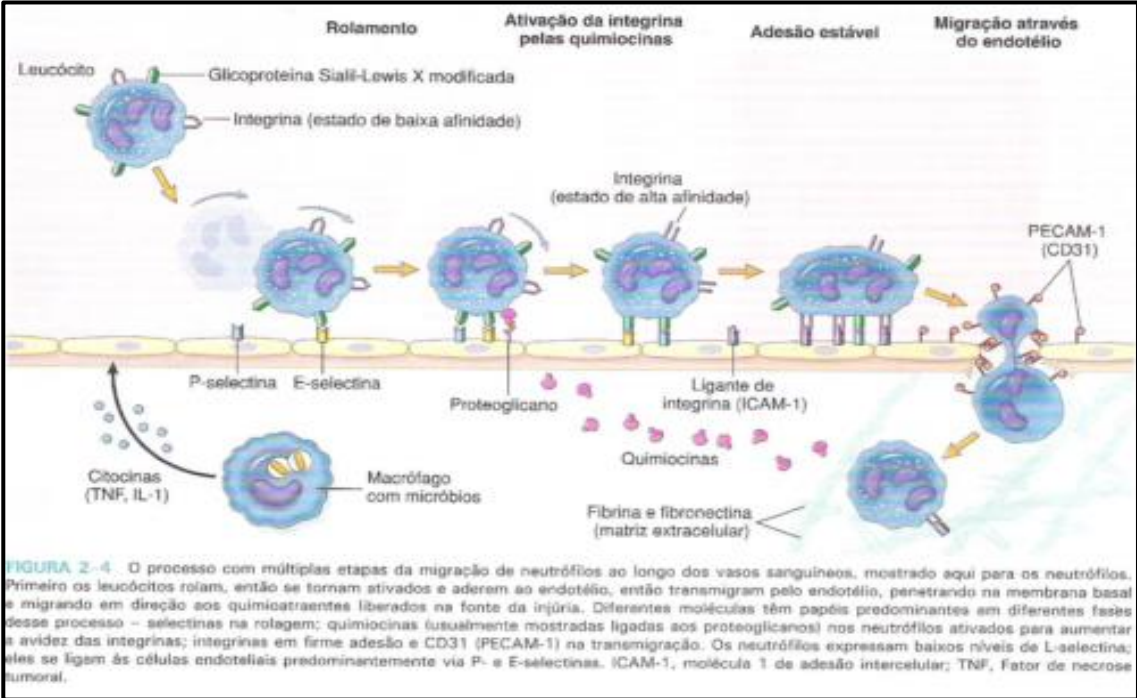


Ilustração 7 - Etapas da migração de neutrófilos

TABELA 2-4 As Ações dos Principais Mediadores da Inflamação		
Mediador	Principais Fontes	Ações
DERIVADOS DE CÉLULA		
Histamina	Mastócitos, basófilos, plaquetas	Vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada, ativação endotelial
Serotonina	Plaquetas	Vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada
Prostaglandinas	Mastócitos, leucócitos	Vasodilatação, dor, febre
Leucotrienos	Mastócitos, leucócitos	Permeabilidade vascular aumentada, quimiotaxia, adesão e ativação de leucócito
Fator ativador de plaquetas	Leucócitos, mastócitos	Vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada, adesão de leucócito, quimiotaxia, desgranulação, explosão oxidativa
Espécies reativas de oxigênio	Leucócitos	Morte dos micróbios, dano tecidual
Óxido nítrico	Endotélio, macrófagos	Relaxamento do músculo liso vascular, morte dos micróbios
Citocinas (TNF, IL-1)	Macrófagos, células endoteliais, mastócitos	Ativação endotelial local (expressão de moléculas de adesão), febre/dor/anorexia/hipotensão, resistência vascular diminuída (choque) Quimiotaxia, ativação de leucócito
Quimiocinas	Leucócitos, macrófagos ativados	
DERIVADOS DE PROTEÍNA DO PLASMA		
Produtos do complemento (C5a, C3a, C4a)	Plasma (produzido no fígado)	Quimiotaxia e ativação de leucócito, vasodilatação (estimulação de mastócito) Permeabilidade vascular aumentada, contração de músculo liso, vasodilatação, dor
Cininas	Plasma (produzido no fígado)	Ativação endotelial, recrutamento de leucócito
Proteases ativadas durante a coagulação	Plasma (produzido no fígado)	

IL-1, interleucina-1; MAC, complexo de ataque à membrana; TNF, fator de necrose tumoral.

Ilustração 8 - Principais ações dos mediadores inflamatórios (Robbins et al, 2010)

Quadros clínicos provocados por intoxicações por metais pesados estão já bem documentados na literatura. Como exemplos podem-se citar o risco de enfarte do miocárdio associado a intoxicação por Hg (pela ingestão de peixes contaminados como é o caso do peixe-espada preto da Madeira); linfomas, associados a intoxicação por Hg e Pb, libertados sob a forma de vapores dos amálgamas dentários. Outras fontes de exposição nefasta a estes metais são o timerosal (etilmercúrio) usado como conservante de vacinas, a exposição laboral de agentes das forças de segurança ao Hg e Pb presentes nos projéteis, a exposição a Hg decorrente de acidentes ambientais, (acidente da Baía de Minamata), processos industriais, incineração de combustíveis fósseis, minas (contaminação de águas com Hg e As) e despejos de lixo. A presença de Cd no tabaco está também já documentada, entre muitas outras exposições decorrentes da atividade laboral e/ ou ocupacional (Cunha M, 2004).

A palavra neoplasia (cancro) significa “novo crescimento” . O termo tumor foi originalmente aplicada ao edema causado pela inflamação mas atualmente está aplicada ao neoplasma. O cancro pode ser benigno ou maligno. Na grande maioria dos casos, um tumor benigno pode ser distinguido de um tumor maligno com base na morfologia destes. Algumas características anatómicas podem sugerir inocência enquanto outras apontam na direção do potencial maligno. Mesmo assim, existem casos onde não há perfeita concordância entre o aspeto do tumor e o seu comportamento biológico. Nesses casos, o perfil molecular podem dar informações muito úteis. Apesar de um aspeto inofensivo poder mascarar uma natureza ruim, em geral os tumores benignos e malignos podem ser distinguidos com base na sua identificação e anaplasia, taxa de crescimento, na invasão local e nas metástases.

O melanoma é um tumor maligno que tem origem nos melanócitos, células produtoras de melanina, pigmento que define a cor da pele, dos olhos e do cabelo. O cancro da pele tem vindo a aumentar mais rapidamente do que qualquer outro tipo de cancro. É um dos tumores malignos mais agressivos em humanos (Francis et al, 2006) e é responsável por 60-80% das mortes de cancro de pele. No desenvolvimento do melanoma maligno, existe uma interação complexa de factores ambientais ou endógenos (genético), incluindo: a desregulação da proliferação celular programada (apoptose) (Rikiishi H, 2007) e interações célula-célula (Bandarchi B, 2013). A pele mostrou a existência de correlações positivas e significativas com os três órgãos para o mercúrio (Hg), crómio (Cr), selénio (Se) e chumbo (Pb) (Burgei J et al, 2005). Com o

desenvolvimento constante de técnicas e estudos sobre este metal, o futuro prevê-se melhor no entanto, em contrapartida, existirão novas ameaças todos os dias, ameaças essas que terão a vida complicada devido à potencialidade da Medicina Legal em aniquilá-las.

Materiais e métodos

Materiais e métodos

Neste trabalho, para se cumprirem os objetivos propostos, foram utilizadas culturas de linhagem celular de melanoma, B16F10. Para isso foram criadas condições *in vitro* inoculando-se as culturas celulares com concentrações de PbCl₂: (0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 50 e 100 µM (micro molar). As suspensões foram preparadas em 500 µl de PBS estéril (controle) e todas as outras suspensões foram ressuspensas com 5 x 10⁵ células de melanoma.

As culturas celulares foram depois observadas ao microscópio de fluorescência.

Células do melanoma (linha celular B16F10)

A linha celular B16F10 é designada por melanoma maligno porque deriva espontaneamente da linha C57BL/6. Esta linha celular foi adquirida através da ATCC (Manassas, Virginia 2009-2010, EUA). As células foram cultivadas em DMEM, suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de NEAA, 1% de Pen/Strep, 1% de nistatina e 2% de L-glutamina. Todas as células foram mantidas numa atmosfera humidificada a 5% de CO₂ a 37° C. As células foram cultivadas até à confluência, colhidas com tripsina, suspensas em PBS e contadas utilizando uma câmara de Neubauer.

Cultura de células

Células do melanoma B16F10 foram adquiridas através da ATCC (Manassas, Virginia 2009-2010, EUA). As células foram cultivadas em DMEM (Life Technologies, Rockville, MD) contendo 10% de soro fetal de bovino (HyClone, Logan, UT), 100 unidades/mL de penicilina, 100mg de estreptomicina e uma solução de aminoácidos não essenciais. Elas foram mantidas a 37°C numa atmosfera húmida a 5% de CO₂ e 95% de ar atmosférico.

Resultados

Resultados

Apresentam-se algumas das imagens de microscopia de fluorescência obtidas após a inoculação da cultura celular de melanoma com as soluções do metal pesado. Este trabalho foi realizado no Instituto de Medicina Molecular de Lisboa e no Instituto de Biologia Molecular e Celular do Porto.

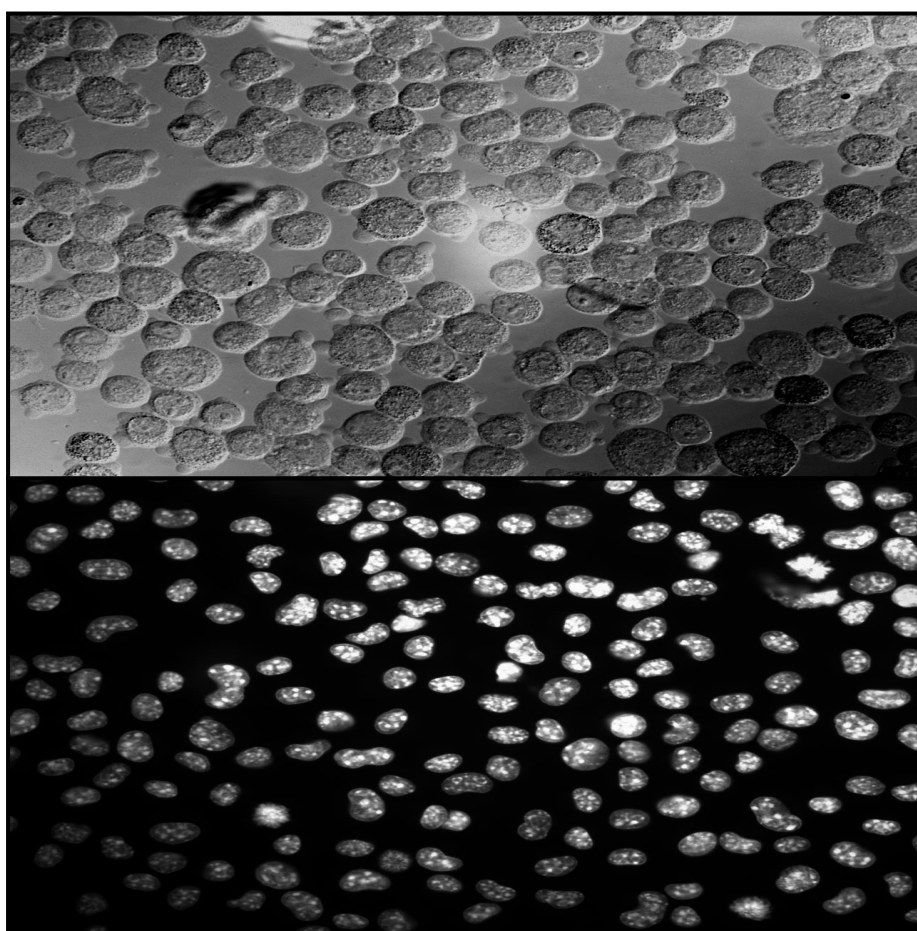


Ilustração 9 - Amostra controlo (figura 1A e 1B)

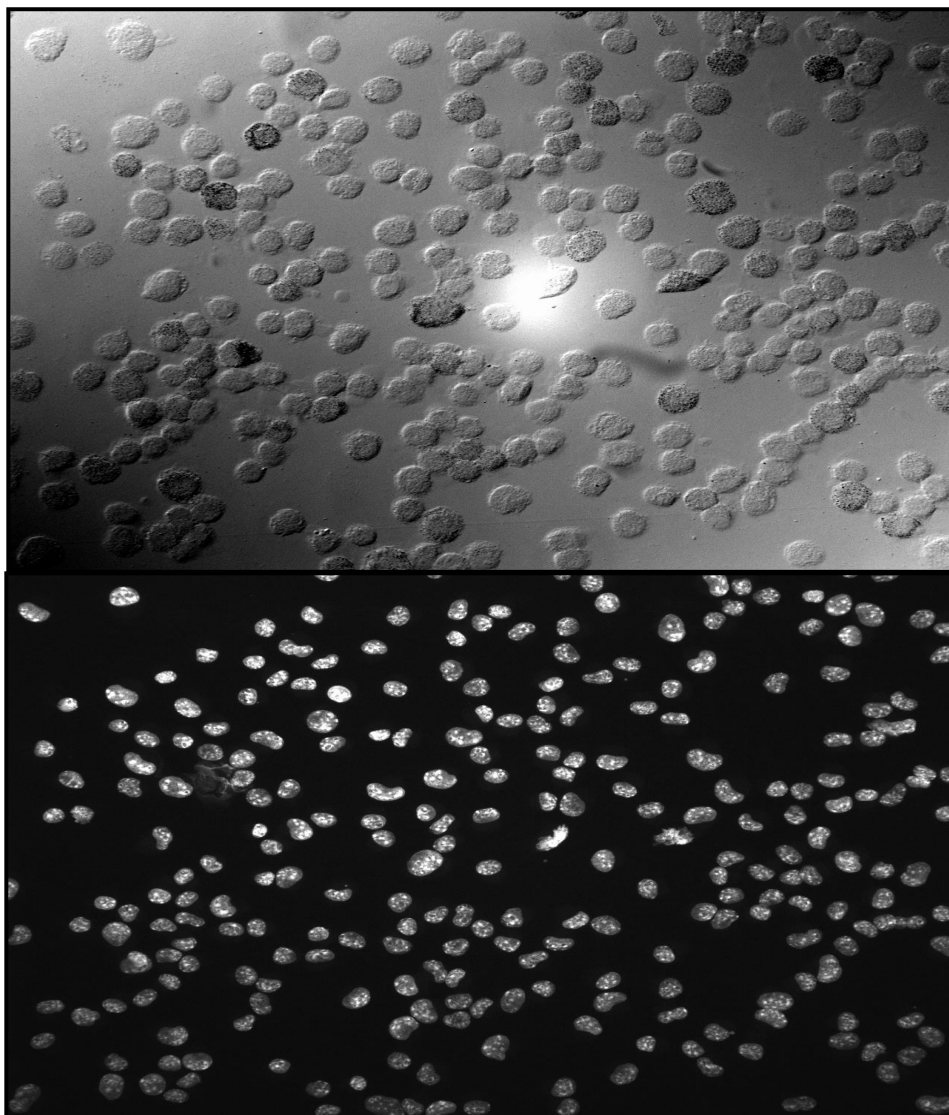


Ilustração 10 - Inoculação com 5 micro molar de solução de $PbCl_2$ (figura 2A e 2B)

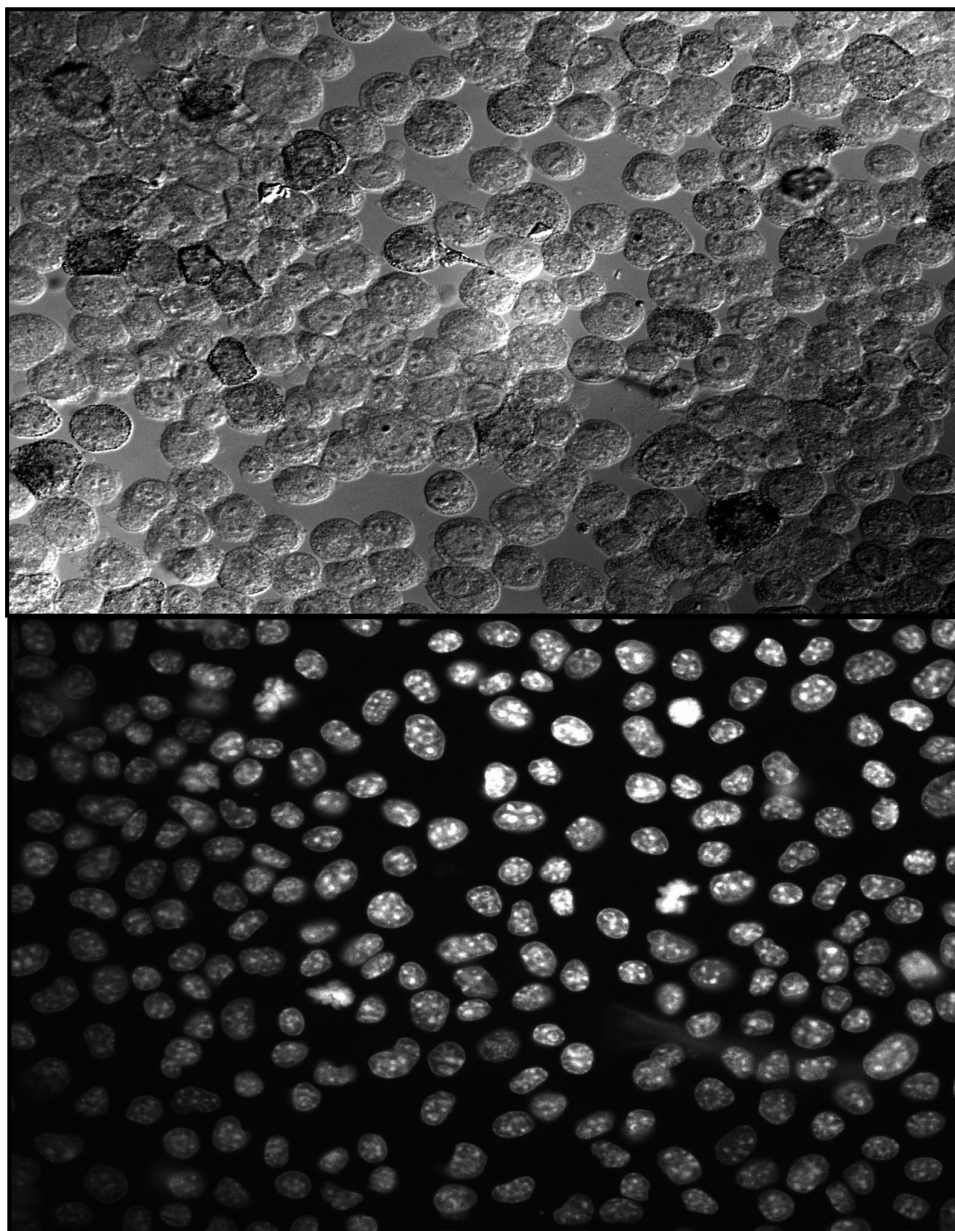


Ilustração 11 - Inoculação com 10 micro molar de solução de $PbCl_2$ (figura 3A e 3B)

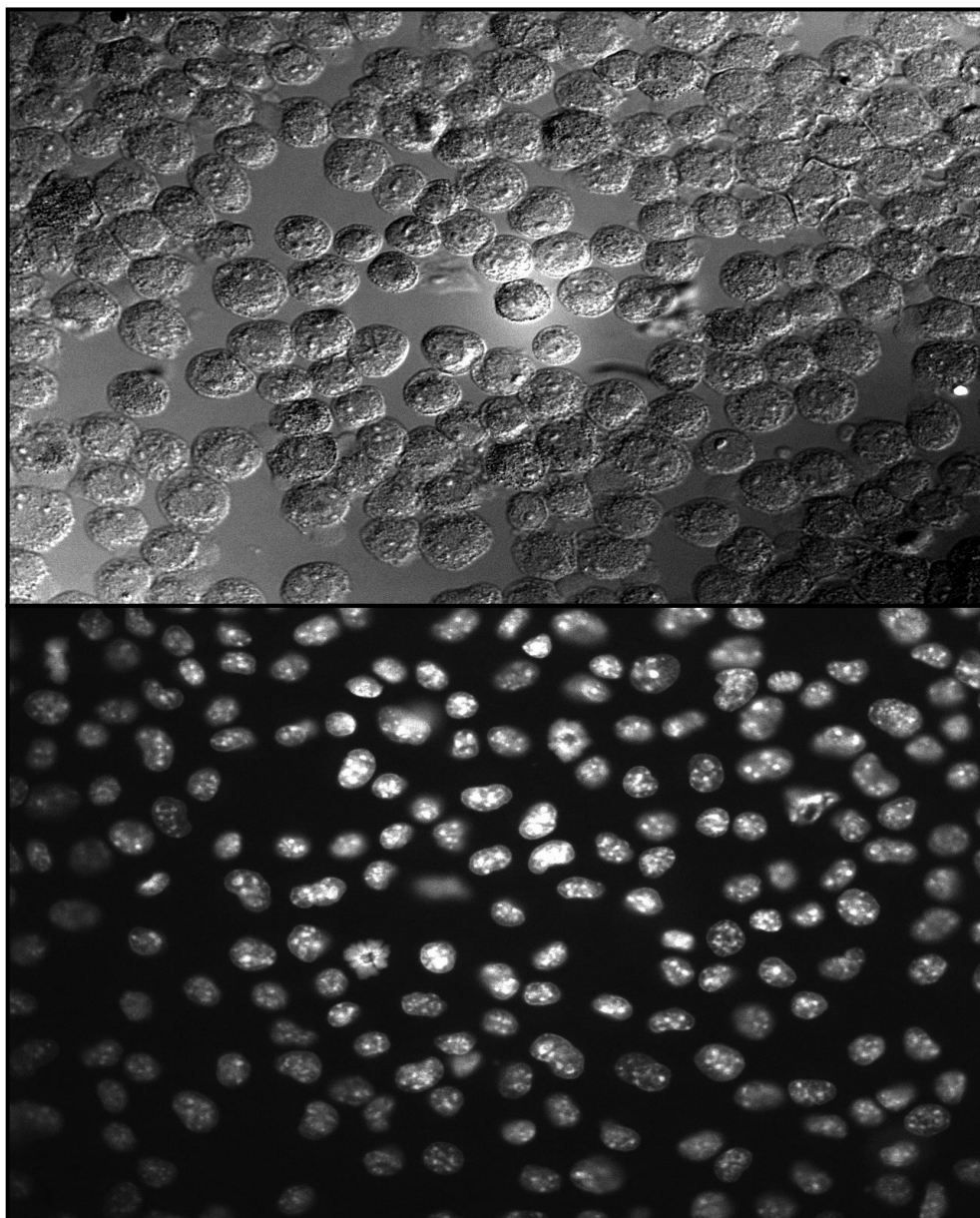


Ilustração 12 - Inoculação com 100 micro molar de solução de PbCl₂ (figura 4A e 4B)

A linhagem celular em estudo mostrou um crescimento celular desorganizado e anormal tornando-se inviável nas concentrações de 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 50 e 100 μ M. As maiores alterações apresentaram-se em termos de divisão celular, o que está de acordo com a bibliografia de referência para este trabalho.

Pretendia-se conseguir inoculações crónicas com o metal, tentando simular as condições descritas neste trabalho mas as culturas celulares tornaram-se inviáveis ao fim de algumas horas de inoculação com todas as concentrações estudadas, tendo-se assim averiguado alterações a nível da divisão celular face a um efeito agudo.

CONCLUSÃO

Conclusão

A Medicina Legal tem hoje um papel mais revelante e fulcral do que no início da sua vida. A sua atividade tem como objetivo auxiliar o Direito na procura pela verdade e pela justiça mas também interfere na investigação e formação profissional. Faz parte das funções do médico legista identificar e caraterizar lesões físicas e psicológicas para posterior interpretação e avaliação das consequências que advêm dessas lesões a nível físico, psíquico e social, esclarecendo até que ponto estas afetam o desenvolvimento do ser humano.

Tanto o chumbo como o mercúrio ou mesmo o arsénio, representam atualmente uma ameaça real à manutenção de um bem essencial para a sobrevivência humana, a saúde pública. Tendo em conta a facilidade com que estes metais chegam até ao ser humano, intoxicando-o, e os efeitos nocivos que provocam, como tremores ou demência, percebe-se facilmente a importância deste tema do ponto de vista médico legal. Com um conhecimento mais profundo sobre esta matéria, a Medicina Legal poderá, com as ferramentas de que disponibiliza, fornecer informações importantes sobre o modo como estes metais atuam, onde atuam e como tratar as intoxicações e os efeitos nocivos reversíveis. No entanto, a área mais importante em que a Medicina Legal pode intervir, através do estudo exaustivo e profundo destes metais pesados e de todo o seu comportamento, é na prevenção. Assim, deste modo, nenhuma destas substâncias interferirá, ou verá o risco de isso acontecer diminuir, na saúde pública favorecendo o decréscimo da taxa de mortalidade e morbilidade. Conclui-se assim que a Medicina Legal é importante na resolução de problemas de Saúde Pública, nomeadamente no que toca a este tema que se tem tornado demasiado comum e perigoso, sendo uma ameaça à sobrevivência humana.

DISCUSSÃO

Discussão

Inflamação associada a cancro pode resultar de uma inflamação persistente, crónica, devido a infeções de agentes patogénicos não resolvidos, no entanto, existem evidências que, o microambiente caracteriza-se pela presença de uma inflamação latente, alimentada principalmente por estroma de leucócitos e por condições de hipóxia.

A Saúde Pública, como ciência que promove a saúde, sua manutenção ou recuperação, através de um processo que envolve o bem-estar social, mental e físico do ser humano, intervém tendo sempre em conta que a saúde é um recurso indispensável para o indivíduo e para a sociedade, devendo ser mantida através de um forte investimento nas condições de vida que criam, mantêm e protegem a saúde. Neste sentido, esta ciência organiza sistemas e serviços de saúde de modo a condicionar a ação da doença nas populações, recorrendo à implementação de ações de vigilância e a intervenções governamentais.

A não manutenção da saúde devido a falhas neste sistema, entre outros factores, pode levar a ocorrência de neoplasias. Esta apresenta uma elevada taxa de mortalidade a nível mundial, infligindo grande sofrimento físico e emocional. A questão mais frequente nestas situações é “Quando haverá uma cura para o cancro?” mas a resposta a esta questão não é nada fácil pois o cancro não é uma doença mas sim um conjunto de muitas desordens que provocam uma intensa desregulação do crescimento celular. A única forma de “tratamento” é apostar na prevenção, aprendendo mais sobre as suas causas e patogenia, deixando a ciência estudar e descobrir novos tratamentos, mais eficazes. Alterações genéticas que ocorrem nas células tumorais também podem ativar um programa inflamatório que afeta profundamente o desenvolvimento do cancro. Neste contexto, o fator de transcrição NF-kB tem emergido como um “Master and Commander” agindo como um promotor de tumor endógeno.

A Medicina Legal apresenta aqui um papel importante com o intuito de parar o aumento de mortes causadas por envenenamentos de chumbo e evitar a exposição a estes dado que os efeitos nocivos são demasiado incapacitantes, incidindo acima de tudo no sistema nervoso central levando a desordens psicológicas graves. A TNI é uma das ferramentas que a Medicina Legal tem ao seu dispor e que, já por si, alerta e evita os riscos desnecessários de exposição ao chumbo.

A presença dos metais que fazem naturalmente parte dos organismos (e que contribuem para o seu normal funcionamento), em excesso ou a presença de metais pesados no organismo humano leva ao aparecimento de efeitos nocivos, nomeadamente neoplasias.

O melanoma, é um dos tumores malignos mais agressivos em humanos é responsável por 60-80% das mortes de cancro de pele. No desenvolvimento do melanoma maligno, existe uma interacção complexa de fatores ambientais ou endógenos (genético), incluindo: a desregulação da proliferação celular programada (apoptose) e interações célula-célula. A pele mostrou a existência de correlações positivas e significativas com os três órgãos para o mercúrio (Hg), crómio (Cr), selénio (Se) e chumbo (Pb). Com o desenvolvimento constante de técnicas e estudos sobre este metal, o futuro prevê-se melhor no entanto, em contrapartida, existirão novas ameaças todos os dias, ameaças essas que terão a vida complicada devido à potencialidade da Medicina Legal em aniquilá-las.

Alguns metais continuam a ser utilizados inclusivamente em tratamentos médicos do -- foro oncológico, em tratamentos dentários através dos amálgamas, assim como são também utilizados em meios de diagnóstico como no caso da imagiologia. São numerosas as suas potencialidades no campo clínico e são hoje mais conhecidos os seus efeitos adversos e tóxicos, contribuindo assim para uma maior consciencialização na sua utilização permitido uma contínua evolução a nível médico/farmacológico procurando a redução da sua toxicidade.

Neste trabalho pretendeu-se estudar em melanoma possíveis alterações celulares, por microscopia de fluorescência, da ação de um microambiente de inflamação crónica.

O maior objetivo deste trabalho, apesar das limitações de não se ter conseguido uma inoculação crónica, mas sim um estudo de efeito agudo, foi verificado sendo possível concluir, pelos resultados obtidos, que mesmo uma inoculação aguda contribui para uma desorganização a nível celular. Contribui-se assim como mais um dado original de que o fenómeno da inflamação crónica/aguda está seguramente associado à carcinogénese/ oncogénese, sendo que os metais pesados enquanto agentes têm um papel fundamental neste mecanismo, sendo a identificação de fatores de transcrição tais como NF-B, AP-1 e STAT3 e os produtos dos seus genes, tais como o fator de necrose tumoral, interleucina-1, interleucina-6, as quimiocinas, ciclo-oxigenase-2, 5-lipoxigenase, metaloproteases da matriz, factores de crescimento endotelial vascular,

moléculas de adesão e outros têm constituído a base molecular para o papel da inflamação no cancro. Contudo, estas vias implicadas na transformação, e na proliferação, da angiogénese, em metástases e na quimio resistência, apesar de parecem ser dependentes da ativação de percursos inflamatórios, estão ainda por esclarecer os mecanismos moleculares subjacentes.

Bibliografia

1. ADEMA GJ, HARTGERS F, VERSTRATEN R, DE VRIES E, MARLAND G, MENON S, FOSTER J, XU Y, NOOYEN P, MCCLANAHAN T ET AL.; A DENDRITIC-CELL-DERIVED C-C CHEMOKINE THAT PREFERENTIALLY ATTRACTS NAIVE T CELLS. NATURE, 387:713-717, 1997.
2. AGGARWAL BB: NUCLEAR FACTOR-KAPPAB; THE ENEMY WITHIN CANCER CELL, 6:203-208, 2004.
3. AHMED F, WYCKOFF J, LIN EY, WANG W, WANG Y, HENNIGHAUSEN L, MIYAZAKI J, JONES J, POLLARD JW, CONDEELIS JS ET AL., GFP EXPRESSION IN THE MAMMARY GLAND FOR IMAGING OF MAMMARY TUMOR CELLS IN TRANSGENIC MICE. CANCER RES, 62:7166-7169, 2002.
4. AZENSSTEIN E, LUBOSHITS G, SHINA S, NEUMARK E, SHAHBAZIAN D, WEIL M, WIGLER N, KEYDARI, BEN-BARUCH A: THE CC CHEMOKINE RANTES IN BREAST CARCINOMA PROGRESSION: REGULATION OF EXPRESSION AND POTENTIAL MECHANISMS OF PROMALIGNANT ACTIVITY. CANCER RES, 62:1093-1102, 2002.
5. BALDWIN A.; CONTROL OF ONCOGENESIS AND CANCER THERAPY RESISTANCE BY THE TRANSCRIPTION FACTOR NF-KB. - *J.CLIN. INVEST.* 107: 241-246, 2001.
6. BALKWILL F, CHARLES KA, MANTOVANI A: SMOLDERING AND POLARIZED INFLAMMATION IN THE INITIATION AND PROMOTION OF MALIGNANT DISEASE. CANCER CELL, 7:211 217, 2005.
7. MAGALHÃES, C: IMPORTÂNCIA MÉDICO LEGAL DOS METAIS PESADOS NO DESENVOLVIMENTO INFANTIL, 2010.
8. MOREIRA F, MOREIRA J: A IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DO CHUMBO EM PLASMA PARA A AVALIAÇÃO DOS RISCOS À SAÚDE, 27(2):251 260, 2003.
9. MOREIRA F, MOREIRA J: OS EFEITOS DO CHUMBO SOBRE O ORGANISMO HUMANO E SEU SIGNIFICADO PARA A SAÚDE, 15(2):119 129, 2004.

10. NOGUEIRA, T: ANÁLISES DE PADRÕES DE MANCHAS DE SANGUE – IMPORTÂNCIA MÉDICO LEGAL, 2013.
11. PEDROSO, M: EXPOSIÇÃO A METAIS PESADOS NA INFÂNCIA, Boletim nº5 *Saúde pública ao centro*, 2005.
12. ROCHA A: CÁDMIO, CHUMBO E MERCÚRIO – A PROBLEMÁTICA DESTES METAIS PESADOS NA SAÚDE PÚBLICA, 2009.
13. VASCONCELOS, I: PESQUISA DE MERCÚRIO E OUTROS METAIS EM DENTES RESTAURADOS A AMÁLGAMA PELO MÉTODO DE SEM-XRM. CONSIDERAÇÕES MÉDICO LEGAIS, 2011.
14. <http://www.dre.pt/cgi/dr1s.exe?t=dr&cap=1-1200&doc=20073559&v02=&v01=2&v03=1900-01-01&v04=3000-12-21&v05=&v06=&v07=&v08=&v09=&v10=&v11='Decreto-Lei'&v12=&v13=&v14=&v15=&sort=0&submit=Pesquisar>: 2013.
15. <http://portal.arsnorte.min-saude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Sa%C3%BAdade%20P%C3%BAblica>: 2013.